

**DETERMINACIÓN DE TRIHALOMETANOS (THM's) EN AGUAS TRATADAS  
DE LA CIUDAD DE PEREIRA MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE GASES POR  
MICROCAPTURA DE ELECTRONES.**

**OSCAR EMILIO GÓMEZ SIERRA  
ESTEBAN MAURICIO ORDOÑEZ GUERRERO**

**UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA  
FACULTAD DE TECNOLOGÍA  
QUÍMICA INDUSTRIAL**

**2014**

**DETERMINACIÓN DE TRIHALOMETANOS (THM's) EN AGUAS TRATADAS  
DE LA CIUDAD DE PEREIRA MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE GASES POR  
MICROCAPTURA DE ELECTRONES.**

**Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de  
Químico Industrial**

**Directora**

**Q.I. Olga Inés Vallejo Vargas**

**Asesor**

**Q.I. Leonardo Beltrán Angarita**

**UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA**

**FACULTAD DE TECNOLOGÍA**

**QUÍMICA INDUSTRIAL**

**2014**



Nota de aceptación:

---

---

---

---

---

---

---

Firma del Presidente del jurado

---

Firma del jurado

---

Firma del jurado

Pereira, Febrero 2014.

## **DEDICATORIA**

Este trabajo va dedicado primeramente a Dios, motor de mi vida, el que siempre ha estado conmigo en cada paso dado, fortaleciendo mi corazón e iluminando mi vida.

A mis padres, Mónica Anabel Guerrero Moncayo y William Mauricio Ordóñez Moncayo por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, por su esfuerzo y dedicación desmedidos, por un amor sin límites y un incondicional apoyo a lo largo de toda mi existencia. Por sus enseñanzas y buen ejemplo que se vieron siempre reflejados en el transcurso de mi vida y que afloraron más que nunca durante la realización de este trabajo.

A mis hermanos Corina Anabel Ordóñez Guerrero y Samuel Andrés Ordóñez Guerrero por su apoyo incondicional, por estar siempre presentes en las alegrías, triunfos, angustias y dificultades, sobre todo durante la realización de este proyecto. Gracias por siempre expresarme su comprensión y cariño.

Finalmente, debo expresar un agradecimiento especial a mi compañero de tesis Oscar Emilio Gómez Sierra con quien trabajé de forma eficiente y animada. Gracias por haberme brindado siempre confianza, apoyo y amistad durante esta travesía.

**Esteban Mauricio Ordoñez Guerrero**

A mis padres María Salomé Sierra Gallego y Álvaro de Jesús Gómez Rodríguez y a mis hermanos Diego Alejandro Gómez Sierra y Sebastián Gómez Sierra quienes depositaron su confianza en mí y que con sus sabios consejos han logrado impulsarme para culminar esta etapa tan importante de mi vida, inculcando en mí la gallardía para convertirme en alguien decidido a cumplir siempre de la mejor forma los propósitos respetando los valores y disfrutando de cada situación y oportunidad que la vida ofrece a diario.

A Dios por regalarme cada día, por acompañarme en el sendero de mi vida, por iluminarme y brindarme la sabiduría necesaria para desarrollar mis labores satisfactoriamente.

A mi compañero y gran amigo Esteban Mauricio Ordoñez Guerrero que con su apoyo, su amistad incondicional me ayudó siempre a superar las adversidades y conquistar tan grandes logros.

**Oscar Emilio Gómez Sierra**

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por entregarnos la sabiduría y la fortaleza para afrontar cada día, a nuestros padres por su inmensa colaboración y total entrega, al personal del laboratorio de análisis de aguas y alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira, a los docentes de la escuela de química y a todas las personas que confiaron en nuestras capacidades y nos aportaron en este enriquecedor proceso.

## GLOSARIO

**Adsorción:** Proceso de atracción de las moléculas o iones de una sustancia en la superficie de otra, siendo el tipo más frecuente el de la adhesión de líquidos y gases en la superficie de los sólidos.

**Analito:** Componente de interés analítico de una muestra. Puede ser un elemento, un ion o una molécula. Son especies cuya concentración se desea conocer.

**Cromatografía:** Método químico para la separación de los componentes de una mezcla por distribución entre dos fases inmiscibles, una estacionaria y otra móvil

**Cromatografía de gases (GC):** Técnica analítica útil en la separación, identificación y cuantificación de los compuestos de una mezcla. Se fundamenta en la diferencia de velocidades de migración de sus compuestos individuales al ser arrastrados por un gas inerte a través de una columna de cromatografía que soporta un medio líquido fijo o estacionario.

**Cromatograma:** Representación gráfica de los picos de elución de una mezcla en un plano de coordenadas en cuya abscisa se encuentra el tiempo o volumen de retención y en ordenadas la señal del detector en KHz. Es el registro obtenido al representar gráficamente la salida de los distintos componentes de una mezcla.

**Desorción:** Proceso que remueve sustancias retenidas desde un material adsorbente.

**Detector:** Dispositivo que responde a cierta característica del sistema que está sujeto a observación y convierte esa respuesta en una señal susceptible de medirse.

**Estandarización:** Conjunto de procesos que buscan establecer la forma de realizar una actividad, de manera adecuada, lógica y secuencial. Consiste en la redacción y aprobación de normas que se establecen para garantizar la calidad de un proceso.

**Extracción:** Procedimiento químico que busca separar uno o más compuestos de interés de otros que no lo son.

**Extracción en fase Sólida (SPE):** Técnica analítica por medio de la cual se emplea una matriz sólida, ya sea para purificar una muestra y retener compuestos que no interesan, como para retenerlos.

**Límite de cuantificación:** Cantidad más pequeña del analito en una muestra que puede ser cuantitativamente determinada con exactitud aceptable.

**Límite de detección:** Cantidad más pequeña de analito en una muestra que puede ser detectada por una única medición, con un nivel de confianza determinado, pero no necesariamente cuantificada con un valor exacto. Es comúnmente expresado como concentración del analito.

**Micro extracción en fase sólida:** Técnica analítica en la que una pequeña cantidad de fase de extracción que se dispersa está expuesta en un soporte sólido en contacto con la muestra por un periodo de tiempo determinado.

**PDMS-DVB:** Fibra de sílice fundida revestida con un polímero para extraer los analitos de las muestras.

**Split:** Sistema de introducción de muestra en cromatografía de gases en el cual se introduce una cantidad determinada de analito, pero solo una parte del analito llega hasta el detector ya que una gran parte de este se remueve por venteo.

**Splitless:** Sistema de introducción directa (sin división) de muestra en cromatografía de gases. Se usa cuando en la muestra existe una baja cantidad de analito.



## TABLA DE CONTENIDO

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	14
2. JUSTIFICACIÓN .....	15
3. OBJETIVOS .....	17
3.1. OBJETIVO GENERAL .....	17
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
4. MARCO TEÓRICO.....	18
4.1. DESINFECCIÓN CON CLORO .....	18
4.2. SUBPRODUCTOS DE DESINFECCIÓN.....	20
4.3. CARCINOGENICIDAD y TOXICIDAD DE LOS TRIHALOMETANOS (THM's).....	21
4.4. FORMACIÓN DE TRIHALOMETANOS.....	23
4.4.1. Factores que influyen en la formación y concentración de trihalometanos .....	24
4.5. TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN Y PRECONCENTRACIÓN DE ANALITOS VOLÁTILES .....	25
4.6. MICRO EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA (SPME) .....	26
4.6.1. Fundamentos de la SPME .....	26
4.6.2. Fibras utilizadas en SPME .....	29
4.6.3. Parámetros que influyen en el proceso de SPME .....	31
4.7. ALGUNAS APLICACIONES DE SPME .....	32
4.8. CROMATOGRAFÍA DE GASES.....	33
4.8.1. Componentes de un cromatógrafo de gases (GC).....	34
4.8.2. Puerto de inyección.....	36
4.8.3. Métodos de inyección de muestras.....	36
4.8.4. Fase móvil.....	37
4.8.5. Columna cromatográfica .....	37
4.8.6. DETECTORES.....	39
4.9. ANÁLISIS DE COMPUESTOS VOLÁTILES (VOC's) .....	41
4.9.1. Espacio de cabeza (HS).....	41
4.9.2. Extracción líquido-líquido .....	41
4.9.3. Inyección acuosa directa.....	42
4.9.4. Purga y trampa.....	42
4.10. PARÁMETROS ANALÍTICOS DEL MÉTODO.....	42

4.10.1	Parámetros de calidad.....	43
4.10.2.	Precisión.....	43
4.10.3.	Exactitud.....	45
4.10.4.	Rango.....	45
4.10.5.	Sensibilidad .....	46
4.10.6.	Límite de detección y límite de cuantificación .....	47
4.10.7.	Selectividad .....	48
4.10.8.	Linealidad .....	49
4.10.9.	Coeficiente de correlación de Pearson .....	50
4.11.	PARÁMETROS DE CALIDAD DEL AGUA .....	51
4.11.1.	Parámetros Físicos.....	51
4.11.2.	Parámetros Químicos.....	52
5.	METODOLOGÍA.....	56
5.1.	ESTANDARIZACIÓN DEL MÉTODO .....	56
5.1.1.	Procedimiento de estandarización .....	57
5.2.	PARÁMETROS ANALÍTICOS DEL MÉTODO.....	61
5.2.1.	Linealidad .....	61
5.2.	INFLUENCIA DE LOS PARAMETROS DE CALIDAD EN LA FORMACIÓN DE THM'S .....	65
5.3.1.	Toma de muestras.....	65
5.3.2.	Análisis de COT y COD .....	67
5.3.3.	Análisis de metales.....	67
5.3.4.	Análisis estadístico .....	67
6.	RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS .....	68
6.1.	IDENTIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS A EVALUAR .....	68
6.2.	EVALUACIÓN DE LA RAMPA DE TEMPERATURA.....	69
6.3.	PROCEDIMIENTO DE ESTANDARIZACIÓN DE SPME .....	72
6.3.1.	Tiempo de extracción de la fibra .....	72
6.3.2.	Efecto de la cantidad de NaCl .....	73
6.3.3.	Efecto de la temperatura de desorción.....	74
6.3.2.	Efecto del volumen de muestra .....	75
6.3.4.	Efecto de la agitación de las muestras .....	76
6.4.	PARÁMETROS ANALÍTICOS DEL MÉTODO.....	77

6.4.1. Linealidad .....	77
6.4.1.1 Ensayos curvas de calibración .....	77
6.4.2. Repetibilidad.....	80
6.4.3. Límite de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) .....	81
6.4.4. Porcentaje de recuperación.....	82
6.4.5. Atributos del método.....	82
6.5. INFLUENCIA DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD EN LA FORMACIÓN DE THM's .....	83
7. CONCLUSIONES.....	92
8. RECOMENDACIONES .....	94
9. BIBLIOGRAFIA .....	95
10. ANEXOS .....	102

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Clasificación de carcinogenicidad de THM's .....	22
<b>Tabla 2.</b> Resumen de las fibras disponibles comercialmente.....	30
<b>Tabla 3.</b> Parámetros de calidad estudiados en métodos analíticos.....	43
<b>Tabla 4.</b> Rampas de temperatura.....	57
<b>Tabla 5.</b> Rampa de temperatura utilizada para los ensayos de curvas de calibración en modo Split.....	71
<b>Tabla 6.</b> Datos obtenidos de la primera curva de calibración en modo Split.....	77
<b>Tabla 7.</b> Datos obtenidos de la segunda curva de calibración en modo Split.....	78
<b>Tabla 8.</b> Comparación coeficientes de correlación entre los modos lineal y cuadrático.....	79
<b>Tabla 9.</b> Desviación estándar y desviación estándar relativa.....	81
<b>Tabla 10.</b> Límite de detección y cuantificación.....	81
<b>Tabla 11.</b> Porcentaje de recuperación patrón de 0,05 ppm.....	82
<b>Tabla 12.</b> Atributos del método.....	83
<b>Tabla 13.</b> Características del análisis univariado.....	83
<b>Tabla 14.</b> Análisis no paramétrico .....	87
<b>Tabla 15.</b> Valores de significancia de cloroformo antes de la cloración-después de la cloración y en la red de distribución.....	88
<b>Tabla 16.</b> Valores de significancia de BDCM en los niveles antes de la cloración-después de la cloración y en la red de distribución.....	90

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Distribución del ácido hipocloroso y del ión hipoclorito en agua .	19
<b>Figura 2.</b> Dispositivo comercial de SPME.	26
<b>Figura 3.</b> Micro extracción con SPME.	27
<b>Figura 4.</b> Modelos SPME.	28
<b>Figura 5.</b> Comparación de los mecanismos de extracción.	30
<b>Figura 6.</b> Esquema general de un Cromatógrafo de gases.	34
<b>Figura 7.</b> Detector de micro captura de electrones.	40
<b>Figura 8.</b> Repetibilidad.	44
<b>Figura 9.</b> Intervalo lineal o rango.	46
<b>Figura 10.</b> Comparación de dos métodos con diferente sensibilidad	47
<b>Figura 11.</b> Imagen del Cromatógrafo de gases thermo 1310.	56
<b>Figura 12.</b> Imagen de la fibra utilizada para la SPME	58
<b>Figura 13.</b> Imagen del montaje para SPME.	59
<b>Figura 14.</b> Ubicación de los sitios de toma de muestras.	66
<b>Figura 15.</b> Identificación de compuestos.	68
<b>Figura 16.</b> Resultado de la evaluación de las rampas de temperatura.	70
<b>Figura 17.</b> Efecto del tiempo de extracción	72
<b>Figura 18.</b> Comparación del efecto de volatilización de los analitos.	73
<b>Figura 19.</b> Efecto de la temperatura de desorción	74
<b>Figura 20.</b> Efecto del volumen de muestra.	75
<b>Figura 21.</b> Efecto de la agitación de las muestras.	76
<b>Figura 22.</b> Cromatograma de la primera curva de calibración en modo Split.	77
<b>Figura 23.</b> Cromatograma de la segunda curva de calibración en modo Split.	78
<b>Figura 24.</b> Cromatograma de la curva final en modo Split.	79
<b>Figura 25.</b> Comparación de cloroformo.	89
<b>Figura 26.</b> Comparación de BDCM	91

## INDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b>	Resultados de los parámetros analizados antes de la cloración.....	102
<b>Anexo 2.</b>	Resultados de los parámetros analizados después de la cloración. ....	104
<b>Anexo 3.</b>	Resultados de los parámetros analizados en la red de distribución. ...	106
<b>Anexo 4.</b>	Certificado de análisis de trihalometanos.....	107
<b>Anexo 5.</b>	Análisis de COT .....	109
<b>Anexo 6.</b>	Análisis de Metales. ....	115
<b>Anexo 7.</b>	Análisis de correlación de Pearson Antes de la Cloración. ....	126
<b>Anexo 8.</b>	Análisis de correlación de Pearson después de la Cloración.....	128
<b>Anexo 9.</b>	Análisis de correlación de Pearson en la Red de distribución.....	130
<b>Anexo 10.</b>	Prueba de Normalidad de los datos.....	132
<b>Anexo 11.</b>	Análisis ANOVA no paramétrico. ....	132

## 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El agua de consumo tiene orígenes diferentes, y puede ser sometida a diversos procesos de potabilización que, además de la desinfección, pueden incluir filtración, coagulación-floculación, sedimentación y adsorción, entre otros. El origen y tipo de tratamiento al cual se somete el agua van a determinar la clase de sustancias que ésta puede contener. El desinfectante utilizado, generalmente cloro, reacciona con la materia orgánica natural presente en el agua bruta (ácidos fúlvicos y húmicos), generando subproductos derivados de la desinfección (SPD). Los trihalometanos (THM's) son los productos más habituales en las aguas de consumo cloradas [1], algunos de los cuales se han clasificado como cancerígenos, mutagénicos, teratogénicos o tóxicos y más recientemente, los estudios epidemiológicos indican que también se puede asociar a problemas reproductivos y de desarrollo [2-8].

La creciente preocupación por los riesgos de salud derivados de la exposición a trihalometanos (THM's), ha conllevado a que las entidades como la OMS (Organización Mundial de la Salud), la U.S.EPA (Agencia de Protección Ambiental de los EE.U.U), la Unión Europea, y el Ministerio de la Protección Social y de Ambiente, Vivienda y desarrollo territorial en Colombia reglamenten los niveles máximos permisibles de subproductos de cloración en el agua de consumo humano [9-13].

Teniendo en cuenta que en Colombia son pocos los estudios de estos agentes contaminantes, y que en el Decreto 1575, resolución 2115/2007, capítulo II artículo 5 (para agua potable) se establece un valor máximo de 0,2 ppm para THM's [12]; se considera necesario establecer un método apropiado para la cuantificación de THM's en aguas tratadas mediante la aplicación de Cromatografía de Gases GC, que le facilite al Laboratorio de Análisis de Aguas y Alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira realizar análisis y garantizar resultados confiables frente a estándares internacionales, para satisfacer a los clientes que requieran de este servicio como es el caso de la planta de tratamiento de Aguas y Aguas de la ciudad de Pereira.

## 2. JUSTIFICACIÓN

La desinfección del agua se ha llevado a cabo de forma habitual desde comienzos del siglo XX con el fin de eliminar y desactivar los microbios patógenos en el agua potable. Además de remover elementos patógenos, los desinfectantes también actúan como oxidantes. Así mismo, son utilizados para a) remover el sabor y el color, b) oxidar el Fe y el Mn, c) prevenir la reaparición de elementos biológicos en el sistema de distribución de agua, d) mejorar la eficiencia de la coagulación y la filtración, y e) prevenir el crecimiento de algas en tanques de sedimentación y filtros [7].

Un desinfectante utilizado predominantemente en el tratamiento es el cloro y sus compuestos. Su uso generalizado no se debe solo a su bajo costo, sino también a su capacidad oxidante, la cual proporciona un nivel mínimo de cloro residual en el sistema de distribución y de esa manera lo protege contra la recontaminación microbiana.

En contraposición, el cloro genera inconvenientes organolépticos evidentes (gusto y olor del cloro), además de producir grandes concentraciones de subproductos de desinfección (SPD) clorados.

Hacia la mitad de los años 70, se descubrió que además de desactivar los organismos patógenos, como se espera, el cloro reacciona con la materia orgánica presente en el agua generando subproductos de desinfección (SPD), específicamente compuestos orgánicos sintéticos como los trihalometanos (THM's) [14]. Su grado de formación varía en función de las características del agua (materia orgánica e iones bromuro), del proceso de potabilización y de factores operacionales (temperatura, pH, cloro residual y tiempo de contacto entre el desinfectante y la materia orgánica) [1]. Por tanto, cabe esperar variaciones en los valores de los subproductos de desinfección presentes en el agua potable dependiendo de las condiciones climáticas y geográficas del tratamiento de potabilización.

Numerosos estudios epidemiológicos han sugerido la existencia de una posible relación entre la exposición a largo plazo a subproductos de la cloración y un mayor riesgo de cáncer y el potencial efecto adverso en el sistema reproductivo [1, 3-8]. Por tal razón, es de gran importancia realizar estudios del nivel de THM's en la planta de tratamiento de Aguas y Aguas de Pereira, donde se cuenta con un gran sistema de tratamiento convencional de desinfección pero sin ningún estudio sobre los tipos de subproductos de desinfección formados en el tratamiento del agua.



Los Trihalometanos representan una fracción de subproductos de cloración; de los cuales los más estudiados son: Cloroformo, Bromodiclorometano, dibromoclorometano y Bromoformo. Teniendo en cuenta los niveles máximos de referencia en la concentración de los THM's es de 0,2 ppm se pretende estandarizar una técnica de extracción eficiente y una técnica analítica moderna y de alta sensibilidad que permita cuantificar estos compuestos en aguas tratadas.

El desarrollo de esta investigación es un aporte de la universidad a: 1) las entidades de control y vigilancia del agua potable en la región al tener resultados confiables; 2) el sistema de normalización colombiano en el cual podría establecer métodos para cuantificación de THM's en aguas tratadas ; y 3) como base para futuras investigaciones sobre la asociación de parámetros de calidad del agua y condiciones operacionales de las plantas de tratamiento de agua con la formación de los sub-productos de la desinfección.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. OBJETIVO GENERAL**

Determinar la concentración de Trihalometanos (THM's) en aguas tratadas de la ciudad de Pereira mediante cromatografía de gases con detector de micro captura de electrones ( $\mu$ ECD).

#### **3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Investigar en diversas fuentes bibliográficas los diferentes métodos para el análisis de Trihalometanos en aguas.
- Estandarizar la técnica para la determinación de Trihalometanos en aguas tratadas
- Obtener los parámetros de porcentaje de recuperación, de linealidad, límite de detección y cuantificación del método.
- Establecer la asociación y cuantificar la influencia de los parámetros de calidad como: temperatura, pH, Carbono Orgánico Total (COT), Carbono Orgánico Disuelto (COD), Ca, Mg, Cu, demanda de cloro, tiempo de cloración, distancia en la formación de los Trihalometanos (THM's).

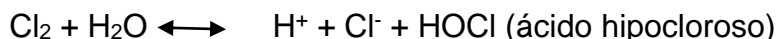
## 4. MARCO TEÓRICO

### 4.1. DESINFECCIÓN CON CLORO

En todo el mundo, el mecanismo de desinfección más aplicado en los sistemas de abastecimiento de agua es el que emplea el cloro y sus compuestos derivados como agentes desinfectantes. Fue introducido masivamente a principios del siglo XX y constituyó una revolución tecnológica, que complementó el proceso de filtración que ya era conocido y utilizado para el tratamiento del agua. La cloración incrementó en 50% la esperanza de vida de los países desarrollados [15].

La cloración del agua potable se lleva a cabo mediante el burbujeo del cloro gaseoso o mediante la disolución de los compuestos de cloro y su posterior dosificación. El cloro en cualquiera de sus formas, se hidroliza al entrar en contacto con el agua, y forma ácido hipocloroso (HOCl) de la siguiente forma:

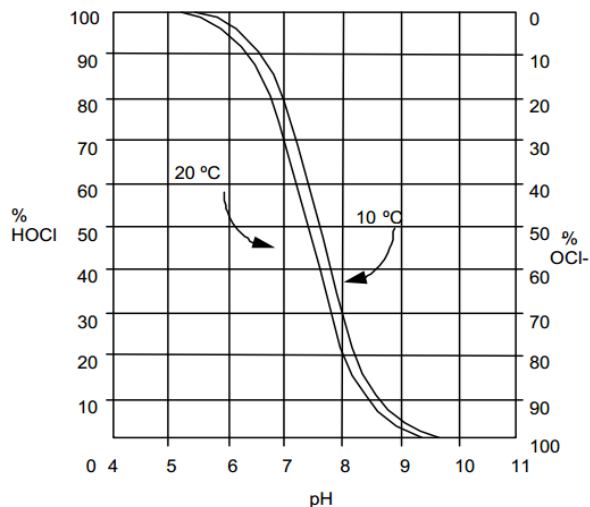
En el caso del **cloro gaseoso**, la reacción que tiene lugar es:



La magnitud de la constante de hidrólisis de equilibrio es tal, que la hidrólisis a ácido hipocloroso (HOCl) prácticamente se completa en el agua dulce a pH > 4 y con dosis de cloro de hasta 100 mg/L. El HOCl es un ácido débil que se disocia parcialmente en el agua del siguiente modo:

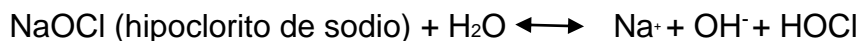


El valor de la constante de ionización ácida es aproximadamente de  $3 \cdot 10^{-8}$ . Como se muestra en la figura 1 a 20 °C y pH 7.5, hay una distribución igual de HOCl y el ión hipoclorito (OCl<sup>-</sup>). A pH 8, cerca del 20% del cloro residual libre está presente como HOCl; y a pH 6.5 el 90% como HOCl. El término “cloro residual libre” se refiere a la suma de HOCl y de OCl<sup>-</sup>. Ya que el HOCl es un desinfectante considerablemente más eficaz que el OCl<sup>-</sup> y que el cloro libre, incluso como hipoclorito, es más eficaz que el cloro combinado (por ejemplo las cloraminas). Se recomienda que la desinfección final produzca una concentración residual de cloro libre de 0.5 mg/L después de 30 minutos de contacto en agua a pH < 8.0. El término “cloro residual combinado” se refiere al cloro ligado al nitrógeno, presente en la formación de cloraminas [16].

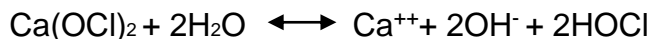


**Figura 1.** Distribución del ácido hipocloroso y del ión hipoclorito en agua para diferentes valores de pH. Tomado de: Solsona F et al [15].

En el caso del *hipoclorito de sodio*, la reacción que tiene lugar es:



En el caso del *hipoclorito de calcio* y la porción activa de la *cal clorada*, la reacción es:



Durante el proceso químico de la desinfección se producen compuestos tales como cloraminas, dicloraminas y tricloraminas en presencia de amoníaco en el agua. Las cloraminas sirven igualmente como desinfectantes aunque reaccionen de una manera sumamente lenta. Asimismo, se forman el ácido clorhídrico (HCl) y los hidróxidos de calcio y sodio, los cuales no participan en el proceso de desinfección [15].

En un sistema de abastecimiento de agua, la cloración se realiza normalmente al final del tratamiento, después de la etapa de filtración. A ello a veces se le denomina poscloración. A veces se realiza una cloración previa a cualquier otro tratamiento, llamado en este caso, precloración. Esta se lleva a cabo con el propósito de controlar las algas que puedan obstruir los filtros y eliminar el gusto y el olor del agua. En este caso y cuando el agua sin tratar lleva algunos materiales orgánicos llamados “precursores” (materia orgánica, ácidos húmicos, etc.), se pueden generar los subproductos de la desinfección (SPD). Los constituyentes más característicos de los SPD (Subproductos de Desinfección) de la cloración son los trihalomentanos (THM's) [15].

## 4.2. SUBPRODUCTOS DE DESINFECCIÓN

Los THM's se encuentran en el agua potable como resultado de la interacción del cloro con materia orgánica natural (demanda de cloro) que se encuentra en el agua. Estos estarán presentes mientras el agua contenga cloro o hipoclorito, además de los precursores orgánicos. Aparentemente, la existencia de riesgo en el consumo de agua clorada radica en la toxicidad indirecta de sus subproductos. Los ácidos húmicos y fúlvicos, que se encuentran en el agua de algunos lugares, son producto de la degradación de materia vegetal, la cual en la mayoría de los casos, le confiere color al agua. Otros compuestos proceden de la degradación de material animal.

Los derivados de la degradación vegetal y animal son compuestos activos que, al reaccionar con el cloro, dan como resultado compuestos orgánicos clorados, entre ellos los THM's. Asimismo, al ser cloradas algunas aguas con cargas orgánicas elevadas -por ejemplo, las aguas contaminadas con efluentes municipales- forman subproductos como: cloro fenoles, ácido cloro acético, ácido dicloro acético, ácido tricloro acético, tricloro acetaldehído, monohidratado, 1-1-dicloropropanona, dicloroacetanitrilo, dibromoacetanitrilo, tricloroacetanitrilo, cloruro de cianógeno, cloropicrin y bromato[7].

Los THM's más predominantes son el clorofomo y el bromodiclorometano; con frecuencia también se encuentran el dibromoclorometano y el bromoformo. La concentración de THM's depende de la presencia de precursores (compuestos activos que pueden reaccionar con el cloro), así como de la dosis de cloro, tiempo de contacto, temperatura del agua y pH. Algunos compuestos que pueden formarse durante la cloración son benzaldehído, benzilcianida, bromoetano, bromobutano, bromocloroacetanitrilo, bromocloroiodometano, bromoclorometano, bromocloropropano, bromodiclorometano, bromoformo, bromopentacloroetano, bromopropano, bromotricloroetileno, tetracloruro de carbono, cloral, clorobutano, clorodibromometano, clorodimetano, cloropicrin, dibromoacetanitrilo, dibromoiodometano, dibromometano, ácido dicloroacético, dicloroacetanitrilo, diclorodibromometano, 1,2 – dicloroetano, dicloroiodometano, diclorofenol, dicloropropano, hexacloroetano, hexacloropentadieno, p-hidroxibenzilcianida, iodoetano, metilbromodicloroacetato, 1,1,1 – tricloro acetanitrilo, tricloro fenol. Los trihalometanos ( $\text{CHX}_3$ ) han sido de los primeros compuestos descubiertos que se forman a consecuencia de la cloración de las aguas. Estas sustancias se forman durante la desinfección con cloro y desinfectantes clorados. Los THM's son triclorometano (cloroformo,  $\text{CHCl}_3$ ), bromodiclorometano ( $\text{CHBrCl}_2$ ), clorodibromometano ( $\text{CHBr}_2\text{Cl}$ ), y tribromometano ( $\text{CHBr}_3$ ) [7].

Los trihalometanos constituyen un grupo de compuestos orgánicos, que como su nombre lo indica, se considera por su nomenclatura como derivados del metano ( $\text{CH}_4$ ), en cuya molécula, tres átomos de hidrógeno han sido sustituidos por igual

número de halógenos (cloro, flúor, bromo o yodo). Debido al bajo peso molecular que poseen estos compuestos, estos se caracterizan por ser compuestos volátiles.

En 1974, Rook descubrió que el ácido hipocloroso y el ácido hipobromoso también reaccionan con materia orgánica de origen natural formando algunos subproductos de desinfección del agua, incluyendo los cuatro trihalometanos principales [22].

- Cloroformo ( $\text{CHCl}_3$ )
- Bromodiclorometano ( $\text{CHBrCl}_2$ )
- Dibromoclorometano ( $\text{CHBr}_2\text{Cl}$ )
- Bromoformo ( $\text{CHBr}_3$ )

El centro de cada uno de los cuatro trihalometanos es un átomo de carbono, y este se encuentra rodeado y unido a cuatro átomos: un hidrogeno y tres halógenos. Estos cuatro compuestos son denominados colectivamente trihalometanos y son abreviados como THM's o TTHM's (para trihalometanos totales) [22].

En relación con la contaminación del agua potable, el problema hasta el momento se ha ceñido a la presencia de cuatro miembros del grupo que son: Cloroformo ( $\text{CHCl}_3$ ), bromodiclorometano ( $\text{CHBrCl}_2$ ), dibromoclorometano ( $\text{CHBr}_2\text{Cl}$ ) y bromoformo ( $\text{CHBr}_3$ ). En vista que los cuatro SPD anotados anteriormente se producen conjuntamente, con frecuencia se consideran como un grupo, denominado trihalometanos totales (THM'sT) [16].

#### **4.3. CARCINOGENICIDAD y TOXICIDAD DE LOS TRIHALOMETANOS (THM's)**

La agencia internacional de investigación del cáncer (IARC) realizó estudios guiados a la determinación de compuestos potencialmente cancerígenos y este estudio suministra la investigación y clasificación de estos compuestos. Como puede observarse en la Tabla 1, el cloroformo y el bromodiclorometano fueron clasificados como posibles generadores de cáncer. La clasificación de posibles compuestos cancerígenos proviene de los datos obtenidos en los estudios realizados con animales y pruebas suficientes de carcinogenicidad en seres humanos. El dibromoclorometano y el bromoformo no están clasificados, ya que no se ha encontrado evidencia que afirme que estos dos compuestos sean precursores del cáncer, pero esto no significa que se puedan clasificar como no cancerígenos. Existe evidencia epidemiológica de cáncer en humanos debido a los cuatro compuestos [7].

**Tabla 1.** Clasificación de carcinogenicidad de THM's

Compuestos	Clasificación
Cloroformo	Posible carcinógeno humano (Grupo 2B)
Bromodiclorometano	Posible carcinógeno humano (Grupo 2B)
Dibromoclorometano	No clasificable en cuanto a carcinogenicidad en seres humanos (Grupo 3B)
Bromoformo	No clasificable en cuanto a carcinogenicidad en seres humanos (Grupo 3B)

- **Cloroformo:** Las pruebas de la genotoxicidad del cloroformo, en su conjunto, han resultado negativas. El cloroformo ha sido clasificado como posiblemente cancerígeno para el ser humano (Grupo 2B), basándose en la escasez de pruebas de su capacidad cancerígena en el ser humano y en la existencia de pruebas suficientes de su capacidad cancerígena en animales de experimentación. Las observaciones de tumores hepáticos en ratones concuerdan, en su conjunto, con un mecanismo de inducción con umbral. Aunque resulta verosímil que los tumores renales en ratas puedan asociarse de forma similar a un mecanismo con umbral, la base de datos presenta algunas limitaciones a este respecto. Los efectos tóxicos del cloroformo observados con mayor frecuencia son lesiones en la región centrolobulillar del hígado. La gravedad de estos efectos por dosis unitaria administrada depende de la especie, el vehículo y el método de administración del cloroformo [7].
- **Bromoformo:** En un bioensayo del Programa Nacional de Toxicología (NTP), el bromoformo indujo un pequeño aumento de tumores relativamente poco comunes en el intestino grueso de ratas de ambos sexos, pero no indujo tumores en ratones. Los datos de diversos ensayos de genotoxicidad del bromoformo son ambiguos. El bromoformo ha sido clasificado en el Grupo 3 (no clasificable con respecto a su capacidad cancerígena para los seres humanos) [7].

- **Dibromoclorometano:** En un bioensayo del NTP el DBCM indujo tumores hepáticos en ratones hembra, y posiblemente en los machos, aunque no en ratas. Varios ensayos han estudiado la genotoxicidad del DBCM, pero los datos disponibles no se consideran concluyentes. El DBCM ha sido clasificado en el Grupo 3 (no clasificable con respecto a su capacidad cancerígena para los seres humanos) [7].
- **Bromodiclorometano:** El BDCM ha sido clasificado en el Grupo 2B (posiblemente cancerígeno para el ser humano). Diversos ensayos in vitro e in vivo de genotoxicidad del BDCM dieron resultados tanto positivos como negativos. En un bioensayo del NTP el BDCM indujo adenomas y adenocarcinomas renales en ratas de ambos sexos y en ratones macho, tumores poco comunes del intestino grueso (pólipos adenomatosos y adenocarcinomas) en ratas de ambos sexos, y adenomas y adenocarcinomas hepatocelulares en ratones hembra. La exposición al BDCM también se ha relacionado con un posible aumento de los efectos sobre la función reproductora (mayor riesgo de aborto espontáneo o mortinatalidad) [7].

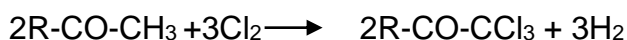
#### 4.4. FORMACIÓN DE TRIHALOMETANOS

La concentración de THM's en las aguas superficiales durante el verano supera la concentración en invierno debido al aumento en la temperatura y la cantidad de materia orgánica presente. Las concentraciones de THM's en el agua superficial normalmente es mayor que la que se encuentra en las aguas subterráneas debido a la variación de materia orgánica presente en el agua [7].

La formación de los trihalometanos, durante la desinfección del agua con el cloro libre, obedece a un complicado mecanismo, por el cual las especies químicas que el halógeno forma con el agua, reaccionan con los derivados del humus que ese medio habitualmente contiene [16].

Cloro residual libre + Precursores	→	THM's
(ac. Húmicos)		(Cloroformo + otros trihalometanos)

El fenómeno de la formación de trihalometanos se puede representar a través de la siguiente “reacción halomorfo”:



Y una hidrólisis posterior:





Cuando hay bromo presente se genera acetona brominada y genera THM's brominados. Los THM's se generan durante las reacciones de hidrólisis de varios subproductos de la desinfección trihalogénicos y productos de transición, como trihalonitrilos, trihaloacetilaldehídos y ácidos acéticos trihalobrominados [7].

Existen cuatro definiciones básicas para THM's:

- THM's instantáneos: Es la concentración al momento de muestrear.
- THM's final: Es la concentración final a la mayor distancia de la distribución principal.
- Formación potencial de THM's: Es determinada por la diferencia de la concentración instantánea de THM's y de la THM's terminal.
- Potencia máxima total de THM's: Este valor representa el nivel de la concentración máximo de THM's bajo las condiciones más favorables para la formación de THM's. [16]

#### **4.4.1. Factores que influyen en la formación y concentración de trihalometanos [16]**

- Temperatura: Manteniendo el pH y la dosis de cloro, al aumentar la temperatura mayor es la posibilidad de formación de cloroformo.
- Efecto del pH: La formación de trihalometanos es mayor al aumentar el valor del pH del agua, por la acción catalítica del haloformo.
- Cloro residual: La concentración de cloroformo aumenta en forma directa con el residual del cloro.
- Precursores orgánicos o sustancias húmicas: Cuando en el agua existe gran cantidad de derivados del humus mayor será la posibilidad de formación de trihalometanos.
- Concentración de bromo (Br) en agua: El bromo es un constituyente natural del agua, reacciona con el cloro para formar ácido hipobromoso y a su vez éste con precursores orgánicos.
- Tiempo de contacto del cloro: Es el tiempo que permanece en contacto la materia orgánica con el agente desinfectante.

Finalmente conviene señalar que los trihalometanos no se forman exclusivamente durante la fase del tratamiento del agua. Por depender de la concentración de los precursores y de la dosis de cloro residual, la reacción que da origen a los THM's, puede continuar desarrollándose en el sistema de distribución del agua potable.

#### **4.5. TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN Y PRECONCENTRACIÓN DE ANALITOS VOLÁTILES**

Un proceso analítico típico consiste en varios pasos discretos: Muestreo, preparación de muestra, separación, cuantificación y análisis de datos. Por ejemplo, en el análisis de compuestos semivolátiles en agua, los analitos de interés se extraen primero en un disolvente orgánico. La solución resultante se introduce luego en un instrumento analítico para su separación, cuantificación y posible identificación. Cada uno de estos pasos afecta la precisión, exactitud y la velocidad del análisis. Aunque las técnicas multidimensionales tales como cromatografía de gases/espectrometría de masas (GC/MS) tienen una mejor separación y cuantificación, las etapas de preparación aun requieren mucho tiempo y a menudo utiliza un volumen significativo de disolventes orgánicos. La SPME fue desarrollada para simplificar las etapas de preparación.

La micro extracción en fase solida (SPME) es una técnica de micro extracción, lo que significa que la cantidad de disolvente de extracción es muy pequeño comparado con el volumen de la muestra. Como resultado, no se produce una exhaustiva extracción de los analitos en la fase de extracción, más bien se alcanza un equilibrio entre la matriz de la muestra y la fase de extracción.

Es necesario desarrollar y optimizar el tratamiento de las muestras para el análisis, principalmente la extracción de la matriz y los pasos de preconcentración de las muestras, en orden para lograr los niveles de concentración que pueden ser medidos por métodos analíticos específicos.

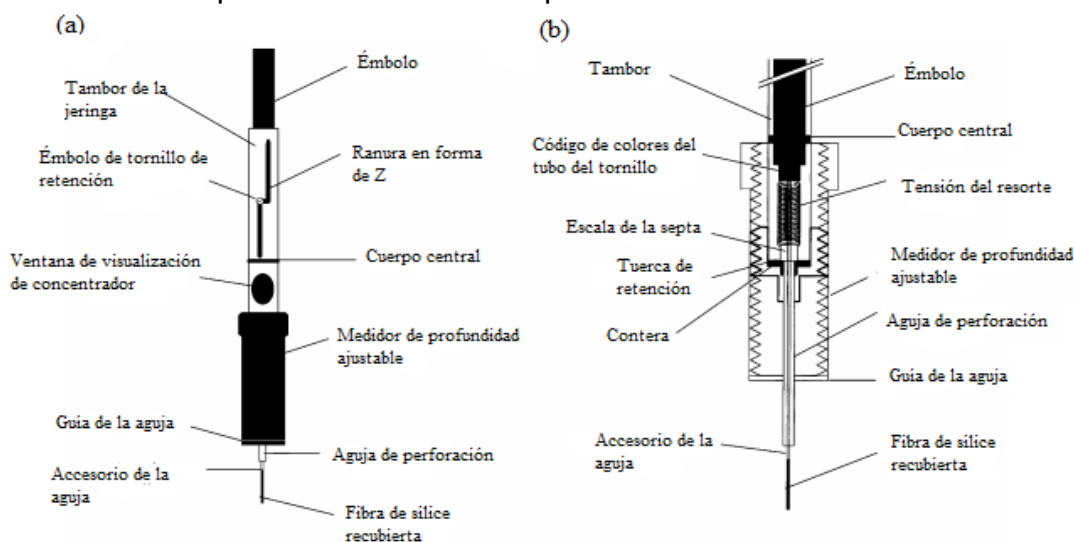
Varios métodos han sido reportados para la extracción y preconcentración de muestras para la determinación de THM's, tales como son extracción líquido-líquido basada en la partición entre dos o más fases a través de las cuales el analito es transferido de la matriz al extracto orgánico. Las técnicas de espacio de cabeza (HS), tales como métodos estáticos (HS- Cromatografía de gases (GC) ), y espacio de cabeza dinámico con purga y trampa y la SPME, principalmente en modo espacio de cabeza han sido ampliamente utilizadas para la determinación de estos analitos.

Más recientemente la micro extracción de fibra hueca en fase líquida (HFLPME) que implica la miniaturización de la extracción líquido-líquido (LLE) basada sobre el soporte líquido de la membrana que posee la misma. Esta usa una membrana de fibra hueca semipermeable donde el solvente orgánico impregna los poros de la membrana y actúa como una interface entre la solución de la muestra y la extracción de la fase contenida en el lumen en el cual el analito es extraído [17].

## 4.6. MICRO EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA (SPME)

### 4.6.1. Fundamentos de la SPME

La SPME es una técnica de extracción de los analitos de la matriz de la muestra que se caracteriza por ser rápida, barata, limpia y versátil, y que puede acoplarse a la GC o a la CL. Utiliza fibras de sílice fundida revestidas con un polímero para extraer los analitos de las muestras. El pequeño diámetro de la fibra y su geometría cilíndrica permiten incorporarla en una jeringa. De esta forma se facilita su manipulación y se protege la fibra cuando no se utiliza. En la Figura 2 se muestra un dispositivo convencional de SPME. Su diseño hace de ésta una técnica adecuada para el análisis de campo.



**Figura 2.** Dispositivo comercial de SPME. a-) Soporte de la fibra. b-) Soporte SPME y montaje de la fibra. Tomado de: Koning S et al [49].

Esta técnica presenta una serie de ventajas ya que es una técnica de extracción que no utiliza disolventes y que requiere pequeños volúmenes de muestra. Con sólo tres tipos de materiales adsorbentes se cubre una gran variedad de analitos a determinar en muestras líquidas, sólidas o gaseosas.

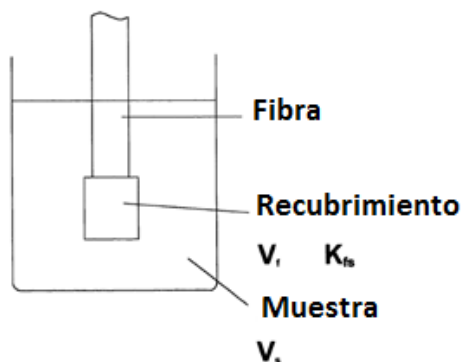
En esta técnica, una pequeña cantidad de fase de extracción que se dispersa sobre un soporte sólido se expone a la muestra por un periodo de tiempo determinado. En un modo, se alcanza un equilibrio de partición entre la matriz de la muestra y la fase de extracción. En este caso, las condiciones de convección no afectan a la cantidad de analito extraída. En un segundo modo donde se utiliza pre-equilibrio de extracción de corto tiempo. Si la convección, agitación o ambos son constantes, entonces la cantidad de analito extraído se relaciona con el tiempo. La cuantificación puede realizarse basándose en la acumulación temporal del analito en el recubrimiento [18].

En la mayoría de los casos, el recubrimiento es una fase orgánica polimérica, que es reticular y fijada de manera permanente a la fibra. Una capa de polímero se usa para proteger la fibra contra la rotura. Dos polímeros comúnmente utilizados son poli-dimetilsiloxano y poliacrilato. Poli-dimetilsiloxano se comporta como un líquido, lo que genera una extracción rápida en comparación con el poliacrilato, que es sólido. Las varillas de sílice tienen un diámetro típico de 100-200 micrómetros y un espesor de película que oscila desde 10 hasta 100 micras. Cuando la fibra recubierta se coloca en una matriz acuosa (Figura 3), el analito se transfiere desde la matriz al recubrimiento. La extracción se considera completa cuando el analito ha alcanzado una distribución de equilibrio entre el recubrimiento de la fibra y la matriz. La condición de equilibrio se puede describir como:

$$n = \frac{K_{fs}V_fV_s C_0}{K_{fs}V_f + V_s} \quad (\text{Ecuación 4.1})$$

Donde n es la cantidad de analito extraída por la fase estacionaria,  $K_{fs}$  es el coeficiente de distribución entre la fibra y la matriz de la muestra,  $V_f$  es el volumen de la fibra que sostiene el recubrimiento,  $V_s$  es el volumen de la muestra y  $C_0$  es la concentración inicial del analito en la muestra [17]. Esta ecuación indica una relación directa entre la concentración del analito en la muestra y la cantidad extraída del mismo. Asumiendo que el volumen de la muestra es mucho mayor al volumen de la fibra de soporte, la cantidad de analito extraído en la muestra es insignificante ante la cantidad que está contenida en la muestra, en este caso la ecuación se simplificaría de este modo.

$$n = K_{fs}V_fC_0 \quad (\text{Ecuación 4.2.})$$



**Figura 3.** Micro extracción con SPME. Tomado de: Pawliszyn J et al [17].

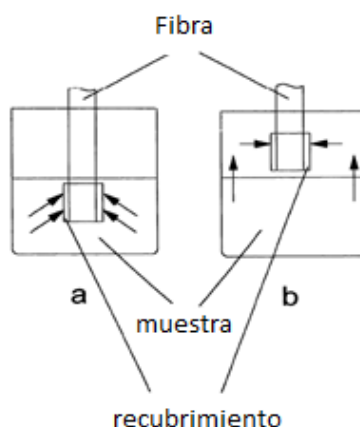
La sensibilidad y límite de detección es comparable a las técnicas basadas en la extracción líquida. Aunque sólo una pequeña porción de analito se extrae de la matriz, todos los analitos extraídos se transfieren al instrumento de análisis. En contraste con la extracción líquida, donde la mayoría del analito se transfiere de una muestra dada a la fase orgánica pero solo una pequeña parte (1/100 o 1/1000) del analito extraído se introduce al instrumento de análisis.

SPME puede ser utilizada en dos modelos principales, configuración de extracción directa y espacio de cabezas (figura 4). En el modo de extracción directa (figura 4a), la fibra revestida es insertada directamente dentro de la muestra y los analitos se extraen directamente de la matriz de la muestra a la fase de extracción. Para realizar una rápida extracción, se requiere un nivel de agitación para mejorar el transporte del analito a la fase estacionaria de la fibra. Para muestras gaseosas, convenciones de aire natural y altos coeficientes de difusión son generalmente suficientes para facilitar un rápido equilibrio. Para matrices acuosas, Se requieren técnicas de agitación más eficientes, tales como flujo forzado, fibra de rápido movimiento o vial, agitación o sonicación.

La agitación de la muestras liquidas reduce el efecto causado por el agotamiento del analito en las zonas cercanas a la fibra. En el modo de espacios de cabezas (figura 4b), el vapor que se encuentra por encima de la matriz es extraído. Por lo tanto, los analitos deben ser relativamente volátiles con el fin de ser transportados desde la matriz al recubrimiento de la fibra.

El muestreo en el espacio de cabezas protege el recubrimiento de la fibra de daños por matrices hostiles, tales como matrices con altos o bajos pH, matrices con moléculas de alto peso molecular, tales como proteínas y ácidos húmicos, que tienden a ensuciar el recubrimiento. El muestreo por espacio de cabezas también permite el análisis de matrices sólidas. La elección del modo de toma de muestras tiene un impacto significativo sobre la cinética de la extracción. Cuando se utiliza el espacio de cabezas como método de extracción.

El analito es extraído de la matriz indirectamente, como se observa en la figura 4b. Por lo tanto, dado que los componentes más volátiles se encuentran en una mayor concentración en el espacio de cabezas, estos se extraen más rápido que los compuestos menos volátiles [17].



**Figura 4.** Modelos SPME: (A) Extracción directa, (B) Espacio de cabezas. Tomado de: Pawliszyn J et al [17].

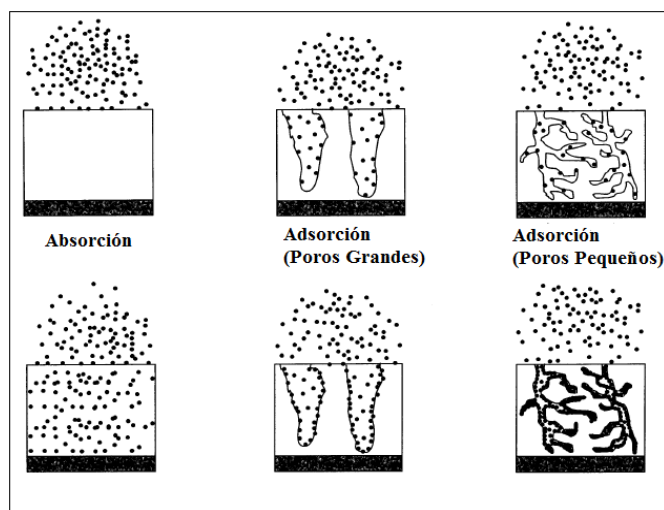
#### **4.6.2. Fibras utilizadas en SPME**

Existen dos tipos de mecanismos de extracción en función de los distintos sorbentes de SPME disponibles comercialmente. El más usado es el polidimetilsiloxano (PDMS), que es líquido. Las fibras de PDMS y las de poliacrilato (PA) extraen los analitos por absorción, disolviéndolos. El resto de sorbentes, incluyendo PDMS-DVB (divinilbenceno), Carbowax-DVB, Carbowax-TPR (plantilla de resina) y Carboxen (Car)-PDMS, son mezclas de capas, en las que la fase primaria de extracción es un sólido poroso, y los analitos se extraen por adsorción.

Los fundamentos de la adsorción y de la absorción son diferentes. La Figura 5 presenta los estados inicial y de equilibrio de ambos procesos de extracción. Independientemente de la naturaleza del sorbente, las moléculas de los analitos alcanzan su superficie. El hecho de que migren hacia el interior del sorbente o se queden en la superficie depende de la magnitud del coeficiente de difusión del analito en el sorbente.

La difusión de las moléculas orgánicas en PDMS es relativamente rápida, por tanto la difusión en PDMS se produce por absorción. Sin embargo, los coeficientes de difusión de las moléculas orgánicas en DVB y Car son tan pequeños que, en el tiempo de análisis de la SPME, todas las moléculas permanecen en la superficie del sorbente. Estas moléculas orgánicas deberían permanecer en contacto con la capa durante un largo tiempo (días o semanas) para que difundieran hacia el interior del sorbente (distancias muy cortas). Esto se manifestaría durante el análisis en un persistente efecto memoria, difícil de eliminar incluso después de varias desorciones.

Algunas fases se comercializan con espesores diferentes (PDMS 7, 30 y 100  $\mu\text{m}$ ) y esto afecta tanto al tiempo de equilibrio como a la sensibilidad del método. El uso de una fibra gruesa requiere un tiempo de extracción más largo pero las recuperaciones son generalmente mayores. El tiempo de extracción para que se alcance el equilibrio es independiente de la concentración de analito en la muestra [23].



**Figura 5.** Comparación de los mecanismos de extracción por absorción y adsorción. Tomado de: Pawliszyn J et al [18].

En la Tabla 2 se enumeran los sorbentes poliméricos más comunes que están disponibles comercialmente. Las fases estacionarias están inmobilizadas sin enlaces, o bien están parcialmente o muy entrelazadas. Las fases no enlazadas son estables en algunos disolventes orgánicos miscibles con agua; sin embargo puede producirse una ligera hinchazón si se usa con disolventes no polares. Las fases enlazadas son compatibles con la mayoría de los disolventes orgánicos excepto con los no polares. Las fases parcialmente entrelazadas son estables en la mayoría de los disolventes miscibles en agua. Las fases muy entrelazadas son equivalentes a las parcialmente entrelazadas, excepto en que tienen algunos enlaces con el centro de la fibra [23].

**Tabla 2.** Resumen de las fibras disponibles comercialmente.

Sorbente de la fibra	Espesor de la capa (µm)	Polaridad	Descripción de la fase	Máxima temperatura de trabajo (°C)	Técnica	Compuestos de análisis
PDMS	100	No polar	No enlazar	280	CG/HPLC	Volátiles
PDMS	30	No polar	No enlazar	280	CG/HPLC	No polares-semivolátiles
PDMS	7	No polar	Enlazada	340	CG/HPLC	Poco polares-semivolátiles
PDMS-DVB	65	Bipolar	Entrelazada	270	CG	Polares volátiles
PDMS-DVB	60	Bipolar	Entrelazada	270	HPLC	General
PDMS-DVB <sup>a</sup>	65	Bipolar	Entrelazada	270	CG	Polares-volátiles
PA	85	Polar	Entrelazada	320	CG/HPLC	Polares-semivolátiles
CARBOXEN-PDMS	75	Bipolar	Entrelazada	320	CG	Gases y volátiles
CARBOXEN-PDMS <sup>a</sup>	85	Bipolar	Entrelazada	320	CG	Gases y volátiles

CARBOWAX-DVB	65	Polar	Entrelazada	265	CG	Polares
CARBOWAX-DVB <sup>a</sup>	70	Polar	Entrelazada	265	CG	Polares
CARBOWAX-TPR	50	Polar	Entrelazada	240	HPLC	Tensioactivos
DVB-PDMS-CARBOXEN	50/30	Bipolar	Entrelazada	270	CG	Volátiles

<sup>a</sup>Tipo Stablefex se encuentra sobre una fibra 2 cm de longitud.

#### 4.6.3. Parámetros que influyen en el proceso de SPME

La eficacia de la extracción (SPME) puede mejorarse mediante la optimización de las variables experimentales que afectan a dicho proceso. Entre estas variables cabe destacar **la agitación de la muestra**, de modo que se favorezca la difusión de los analitos desde la matriz de la muestra hasta la fibra o al espacio de cabeza reduciendo el tiempo necesario para alcanzar el equilibrio. Esto es especialmente importante para analitos de elevado peso molecular y bajos coeficientes de difusión [24].

El **tiempo de extracción** es un parámetro muy importante en el proceso de absorción/adsorción. Cada par analito/fibra tiene un tiempo de equilibrio determinado, a partir del cual la cantidad de analito extraída se mantiene constante. El tiempo de equilibrio es inversamente proporcional al coeficiente de difusión [25]. Sin embargo, este tiempo puede ser muy largo, por lo que en algunos casos se elige trabajar en condiciones de no equilibrio [26] En estos casos el tiempo de extracción se debe controlar estrictamente, ya que pequeñas oscilaciones en la medida del tiempo implican variaciones significativas en la cantidad de analito extraída.

La **temperatura de extracción** también puede influir en el proceso de extracción. La manera más simple y eficaz de liberar a los analitos de su matriz es la desorción térmica. Al calentar la muestra hasta una temperatura elevada se proporciona energía a las moléculas de analito superando de este modo las barreras energéticas que mantienen a los analitos en la matriz, se asegura el proceso de transferencia de masa y se aumenta la presión de vapor de los analitos. Sin embargo, el proceso de absorción de los analitos sobre la fibra es exotérmico, lo que significa que mientras que la temperatura elevada permite liberar los analitos de su matriz, también puede afectarle inversamente a la absorción debido a la disminución de los coeficientes de partición del analito entre la muestra y la fibra [27].



El estudio del efecto del **volumen de la muestra** indica que excepto para compuestos con valores de K (coeficiente de partición entre la muestra y la fibra) pequeños, el volumen tiene una influencia significativa sobre la cantidad extraída con la fibra. Por otra parte los compuestos semivolátiles suelen tener valores de K elevados, por tanto, cuando se emplean pequeños volúmenes de muestra, éstos tienen un efecto significativo sobre la cantidad extraída. [28,29].

**La adición de sal** en SPME permite modificar la matriz de modo que aumente la fuerza iónica y disminuya la solubilidad de los analitos, lo que permite que se liberen más analitos al espacio de cabeza de la muestra. Cuanto mayor es la solubilidad de los analitos en la fase acuosa mayor es la influencia que tiene la adición de sal sobre la eficacia de la extracción. La saturación con una sal puede usarse no solamente para disminuir los límites de detección, sino también para normalizar la influencia de una concentración variable de sal en la matriz de una muestra [25].

El efecto del **pH** depende del tipo de compuestos. Así por ejemplo, clorofenoles con elevado valor de pKa no presentaron un cambio significativo en la cantidad absorbida cuando se bajó el pH a 2.5. Sin embargo, para compuestos con valores de pKa entre 4.7 y 7, la disminución del pH produjo un aumento considerable de sus respuestas. Por tanto los analitos deben estar en forma neutra para su extracción [26].

#### **4.7. ALGUNAS APLICACIONES DE SPME**

Desde su invención en 1989, ha tenido un rápido crecimiento en el número de aplicaciones de SPME. La mayoría de los compuestos orgánicos han sido estudiados, y pesticidas, herbicidas y otros compuestos biológicamente activos en muestras acuosas. Para el análisis de compuestos volátiles y semivolátiles en muestras sólidas tales como sedimentos y lodos, HS-SPME ha tenido un amplio uso. Además, HS-SPME ha sido utilizada para determinar aromáticos y PAHs en matrices de arena y arcilla con púas, compuestos orgánicos en suelos de vertederos, compuestos organometálicos en suelos de sedimentos, y muestras en plasma y muestras en suelo de mercurio inorgánico. También ha sido utilizada para determinación de odorantes, cloro y nitrobenzenos y cloro y nitroanilinas en una amplia variedad de suelos.

La SPME puede ser aplicada también para la determinación directa de diferentes componentes en muestras de aire, la cual es análoga a la extracción convencional de HS. Generalmente la sensibilidad de la HS-SPME puede ser mejorado por la manipulación de la matriz (adición de acetona- agua 70:30) o por la optimización de las condiciones de extracción (el material de adsorción de la fibra, la

temperatura, la agitación y el tiempo de extracción). Por ejemplo, el efecto de la temperatura alta y la adición de agua han sido reportados para ser de mayor importancia para el análisis de analitos de baja volatilidad, analitos tales como PAHs en suelos. Aunque HS-SPME permite la extracción de analitos de matrices contaminadas, evitando el contacto con la muestra, HS-SPME también ha sido utilizada para analizar pesticidas y fungicidas en agua, alquilbencenos, aminas aromáticas, clorofenoles, ftalatos, PAHs y hexaclorobencenos en suelos, organometálicos en sedimentos y etoxilato de alquilfenol surfactantes en lodos. SPME es una técnica de preparación de muestras rápida, selectiva y relativamente barata. La extracción también puede ser realizada por un proceso automatizado [27].

#### **4.8. CROMATOGRAFÍA DE GASES**

La cromatografía de gases fue la técnica cromatográfica desarrollada hace cinco décadas, se empleó inicialmente para compuestos volátiles que no se descomponen al calentarse pero ahora se ha extendido a polímeros que al calentarse producen monómeros volátiles.

Su rapidez y buena resolución se han aplicado al análisis de mezclas complejas de hidrocarburos, pesticidas en suelo, que se consideran contaminantes ambientales, aromas, saborizantes empleados en alimentos, fragancias empleadas en la industria de perfumes y en ciencias forenses para identificar sustancias inflamables causantes de incendios.

Para una exitosa aplicación de la técnica cromatográfica se requiere una cuidadosa selección de las columnas cromatográficas empleadas, existen una alta cantidad de fases estacionarias para aplicaciones específicas [30].

La cromatografía agrupa un conjunto importante y diverso de métodos que facilitan la separación, identificación y determinación de componentes estrechamente relacionados en mezclas complejas; muchas de dichas separaciones son imposibles por otros medios. En todas las separaciones cromatográficas la muestra se disuelve con una fase móvil – que puede ser un gas, un líquido o un fluido supercrítico- la cual se hace pasar a través de una fase estacionaria inmiscible fija en una columna o en una superficie sólida.

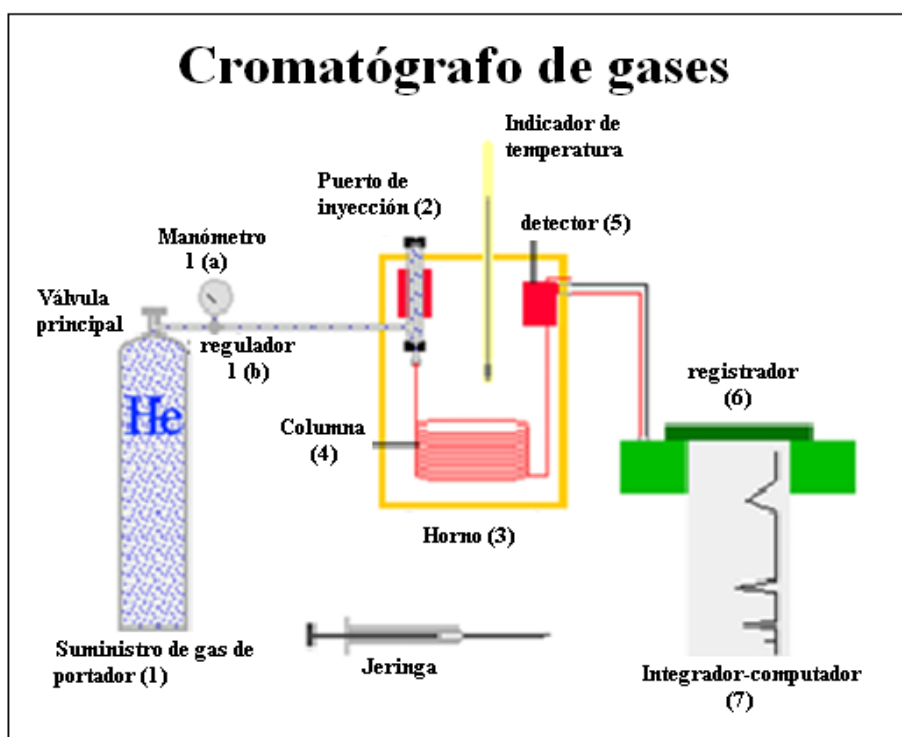
Las dos fases se eligen de tal forma que los componentes de la muestra se distribuyen en grados distintos entre la fase móvil y la fase estacionaria. Aquellos componentes que son fuertemente retenidos por la fase estacionaria se mueven con mucha lentitud con el flujo de la fase móvil. En cambio, los componentes unidos débilmente a la fase estacionaria se mueven con rapidez. Como consecuencia de las distintas velocidades de migración, los componentes de la

muestra se separan en bandas o zonas distintas que se pueden analizar en forma cualitativa y cuantitativa [19].

#### 4.8.1. Componentes de un cromatógrafo de gases (GC)

En cromatografía de gases, la mezcla de solutos a separar, una vez volatilizada, se hace pasar a través de un tubo largo y estrecho (columna) con la ayuda de un gas portador inerte, basándose la separación en la distinta velocidad de los solutos a su paso por la columna, los cuales van llegando a continuación al sistema de detección. Las señales del detector se registran adecuadamente obteniéndose una serie de picos que constituyen el cromatograma. La posición de los picos (tiempo de retención) se utiliza con fines cualitativos, mientras que el tamaño de los mismos se relaciona con la concentración de los solutos [31].

En la figura 6 se muestra un esquema general de las partes de un cromatógrafo de gases, seguido de una descripción del recorrido que hace la muestra, así como de una descripción de cada parte del equipo.



**Figura 6.** Esquema general de un Cromatógrafo de gases.

Tomado de: Cromatografía de gases EN: <http://www.rabfis15.uco.es/labquímica>.

(1) Sistema de suministro de gas portador, que generalmente es una bala o botella de gas a presión, y que a su salida tiene: (a) un manorreductor, y (b) un sistema

de regulación y medida del caudal. Frecuentemente, el gas se divide en dos flujos antes de llegar al sistema de introducción de la muestra: uno se dirige directamente al detector, para que actúe como referencia, mientras que el otro para a través de la columna, y en el que transporta a la muestra [31].

(2) Puerto de inyección, cuya configuración varía según el estado físico de la misma y el tipo y capacidad de la columna utilizada. Este sistema pone en contacto a la muestra con la corriente de gas portador.

(3) Sistema de control de temperatura también denominado horno, que controla la temperatura del sistema de introducción de la muestra y de la columna, ya que ésta es una variable decisiva para conseguir una separación y reproducibilidad adecuadas.

(4) Columna, que es el componente esencial del cromatógrafo ya que es donde se produce la separación de los solutos. En ella se encuentra la fase estacionaria (líquida o sólida). Presenta distintas formas y tamaños según el tipo de aplicación.

(5) Sistema de detección, situado a la salida de la columna. A través de él pasa el gas portador con los solutos y separados. Cuando pasa un soluto se origina una señal eléctrica que se amplifica adecuadamente.

(6) Registrador, al que llega la señal eléctrica amplificada y da lugar al cromatograma. A partir del mismo se obtiene los datos cualitativos y cuantitativos.

(7) Integrador-computador, que es un sistema informático incorporado al cromatógrafo para la toma y tratamiento de datos. Realiza automáticamente las operaciones siguientes: (a) integra el área de pico, (b) mide el tiempo de retención, (c) realiza cálculos con estándares, y (d) da impreso el informe final del análisis [31].

Todo el proceso inicia con la inyección de la muestra, efectuado por el dispositivo de inyección el cual regularmente es una micro jeringa, además de otros dispositivos de inyección manual como el soporte de SPME, y cuyo objetivo es depositar la muestra en la cámara de inyección calorífica o inyector. A través de un flujo constante del gas portador, que pasa por el inyector, la muestra es transportada a la columna, donde los componentes de la misma se comienzan a distribuir en la fase estacionaria debido a las distintas formas de interacción con la misma. La columna que puede ser rellena o capilar, ubicada en el interior de un recinto termostatzado u horno [20].

La velocidad de movimiento de los distintos compuestos de la mezcla a lo largo de la columna, da como resultado tiempos de retención diferentes para cada compuesto. Si el coeficiente de partición favorece la fase estacionaria, la velocidad de migración del compuesto a través de la columna será baja. Análogamente, aquellos que sean retenidos débilmente por la fase estacionaria, se desplazarán con mayor velocidad a lo largo de la columna. El compuesto que tenga menor

afinidad por la fase estacionaria llegará más rápidamente al final de la columna. Los primeros componentes que emergen de la columna junto con el gas portador, ingresan al detector, cuya señal emitida es amplificada por el electrómetro, activando el registrador, que permite manejar un registro permanente de la separación, al trazar un gráfico llamado cromatograma, que muestra los tiempos de retención de cada sustancia, y la intensidad de la señal (directamente proporcional a la concentración del analito) expresada en milivoltios (mV). Este gráfico consta de una serie de picos, cuyo tiempo de retención permite identificar el compuesto, y con el área bajo el pico se determina la concentración, por ende el tamaño del pico será directamente proporcional a la intensidad de la señal recibida desde el detector y esta señal a su vez es directamente proporcional a la concentración del analito [20].

#### **4.8.2. Puerto de inyección**

Es un dispositivo que permite la introducción de la muestra en la corriente del gas portador. Existe cierta variedad de diseños según el tipo de muestra que se trata de analizar. El más común es el inyector de líquidos, que puede utilizarse para sólidos (en disolución) y gases (mediante jeringas especiales). El inyector se trata de una cámara situada a la entrada de la columna y calentada independientemente de ésta (a temperatura superior del punto de ebullición del componente más volátil de la muestra, generalmente), que suele tener una membrana de caucho a través de la cual se introduce la muestra con la ayuda de una micro jeringa hipodérmica [21].

#### **4.8.3. Métodos de inyección de muestras**

Dependiendo de la cantidad de muestra disponible, del tipo de columna que se emplee y en últimas de la concentración de los analitos, existen dos sistemas usados para inyectar la muestra en la columna de separación:

**Inyección en Split:** Al momento de trabajar con columnas capilares, es necesario reducir el volumen de muestra para no sobrecargar el sistema. Generalmente se inyecta 1  $\mu\text{L}$  de muestra por medio de un inyector-divisor (inyección en split) pero realmente sólo ingresan 0.01  $\mu\text{L}$  a la columna. Este método impide la sobrecarga de la columna pero desperdicia una cantidad considerable de muestra.

**Inyección en splitless:** Cuando la cantidad de muestra disponible es muy limitada y las concentraciones de los analitos están en niveles considerablemente bajos, si se empleara inyección en Split se introduciría muy poca muestra en la columna. Para estos casos se requiere un sistema de inyección sin división (inyección

splitless). A través de este mecanismo, la muestra completa incluyendo el disolvente se introducen en la columna a través de un vaporizador instantáneo caliente. Se evita un exceso de solvente en la columna, abriendo hacia la atmósfera el puerto de inyección, poco tiempo después de inyectada la muestra, cuando una buena parte del disolvente y la totalidad de la muestra han ingresado a la columna [21].

#### **4.8.4. Fase móvil**

Gaseosa, líquida o fluido supercrítico (potencia disolvente de los fluidos a temperaturas y presiones superiores al punto crítico). Estas fases son generalmente gases inertes como Helio, Argón o Nitrógeno. El gas portador lleva las moléculas del analito a través de la columna, este movimiento es inhibido por la adsorción que presenta el analito tanto en las paredes de la columna cuanto en los materiales empaquetados en la misma [21].

Estos gases deben de reunir ciertos requisitos para cumplir la función de arrastre eficazmente, las cuales se describen a continuación.

- Debe de poseer un comportamiento inerte frente a la fase estacionaria y los componentes de la muestra.
- Debe ser térmicamente estable.
- Su selección depende de:
  - Disponibilidad del Gas.
  - Pureza del gas.
  - Consideraciones particulares del análisis y del detector empleado.

#### **4.8.5. Columna cromatográfica**

Es al interior de ésta en donde se efectúa la separación, por lo que se le conoce como el “corazón del cromatógrafo”. Debido a la amplísima variedad de análisis que se pueden realizar por cromatografía de gases, existen diferentes tipos de columnas que pueden variar en muchos aspectos como longitud, material de la columna, diámetro interno, etc. Sin embargo, la diferencia fundamental entre un tipo de columna y otra radica en la constitución de la fase estacionaria, así [21].

##### **A) Empacadas**

- Fase estacionaria líquida, que recubre un soporte sólido, para cromatografía gas-líquido.
- Fase estacionaria sólida, en los casos de cromatografía gas-sólido.

## B) Capilares

- Columna Capilar de pared recubierta (W.C.O.T)
- Columna Capilar de soporte recubierto (S.C.O.T)

En el caso de las columnas capilares W.C.O.T (Las siglas W.C.O.T y S.C.O.T hacen referencia a la abreviatura en ingles del tipo de columna: Wall Coated Open tubular y SupportCoted Open Tubular) son tubos capilares donde la pared interna está cubierta de una finísima capa de fase estacionaria. Las segundas (S.C.O.T) poseen en su parte interna una fina capa de material adsorbente, como el empleado en las columnas empacadas, donde se ha adherido la fase estacionaria. Cada tipo de columna, trae sus ventajas y desventajas frente a las demás. En el caso de las columnas empacadas, su capacidad de carga es mayor, por lo que puede trabajar con mucha más cantidad de muestra que una columna capilar. Análogamente, la ventaja de las columnas capilares frente a las empacadas es su eficacia en el proceso de separación de las mezclas determinadas.

La elección de las columnas es lo más crítico, existen dos diferencias fundamentales que deben ser consideradas para la elección de la columna: la cantidad de muestra que admiten (capacidad de carga) y los valores de los flujos del gas portador. La capacidad de carga se define como la cantidad de muestra que se puede inyectar sin pérdida apreciable de eficacia y está relacionado con la cantidad de fase estacionaria por unidad de longitud de la columna [21].

Las columnas empaquetadas contienen un soporte sólido inerte con una cubierta delgada de la fase líquida. El soporte sólido es frecuentemente tierra de diatomeas. La fase líquida puede tener una viscosidad baja y una alta solubilidad para la mezcla de componentes.

Las columnas de capilaridad originalmente contenían una película del líquido cubriendo la pared interna de la columna de vidrio o metal. Las columnas de capilaridad ahora contienen una capa de revestimiento sólido dentro de ella con poro en el centro. Estas columnas son mejores porque se les puede aplicar una velocidad óptima de flujo más rápida (aprox. de 2-5 ml por min en lugar de 1 ml por min). Debido a este tipo de columnas, los análisis han podido ser más sensibles.

La columna se encuentra ubicada en el interior de un recinto termostatzado u horno. Esto se debe a que la temperatura influye de manera importante en la retención de los componentes por la columna, y por ende en la separación de éstos. Por tal motivo, la temperatura debe ser uniforme a lo largo de la columna y fácilmente controlable. Se consigue uniformidad en la temperatura a lo largo de la columna haciendo circular aire caliente por todo el recinto que la contiene. Esto se hace por medio de un ventilador. En la mayoría de los equipos la temperatura se

puede regular de un modo continuo a un valor deseado. De igual forma en algunos equipos se acopla un programador lineal de temperatura para calentar la columna con una o varias rampas de calentamiento [20].

#### **4.8.6. DETECTORES**

Los detectores son dispositivos que indican y miden los solutos en la corriente del gas acarreador, convirtiendo una señal no medible directamente en una señal elaborable de una propiedad física. Esta señal es elaborada por una comparación entre el gas acarreador puro (blanco) y el mismo gas llevando cada uno de los componentes previamente separados en la columna, esto es traducido en una señal eléctrica que es amplificada y registrada al momento de salir de la columna [21].

Los detectores usados en cromatografía de gases son transductores de concentración, es decir, instrumentos con la capacidad de medir, en este caso, la variación de la concentración de las sustancias eluidas en el seno del gas portador, convirtiéndola en una señal eléctrica proporcional, fácilmente medible y registrable en función del tiempo. En general, los detectores empleados en cromatografía de gases, deben reunir ciertos requisitos propios de las exigencias y de la naturaleza de la técnica cromatográfica como tal; esto implica que debe ser un transductor de concentración en fase de vapor, poseer una adecuada sensibilidad así como un bajo nivel de ruido, estabilidad y reproducibilidad, que le confieran por ende una alta fiabilidad y manejo sencillo [20].

Por otra parte, debe ser rápido, capaz de revelar casi instantáneamente variaciones de concentración en el gas portador que emerge de la columna. Esta rapidez de respuesta es particular para cada detector, pero puede decrecer si el volumen interno del mismo es grande. En vista de ello, para obtener una rápida respuesta y evitar pérdida de resolución de las sustancias separadas, el volumen interno del detector debe ser lo más pequeño posible. En conclusión, al comparar la calidad de los detectores empleados en cromatografía de gases, se deben tener en cuenta aspectos fundamentales como: sensibilidad, rapidez de respuesta, una respuesta lineal adecuada, así como un bajo nivel de ruido pero sensible a las variaciones de flujo y temperatura.

Un buen detector es altamente sensible (sensibilidad), tiene una respuesta lineal (linealidad) sobre un amplio rango de concentración y es relativamente insensible a variaciones de flujo y temperatura (rango dinámico lineal).

Pueden ser clasificados por:

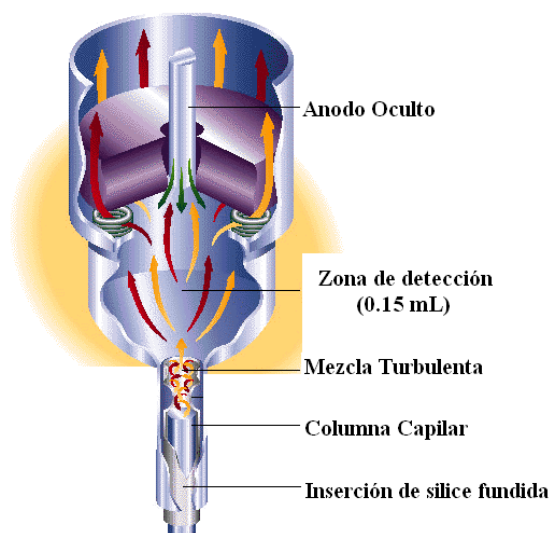
- Grado de selectividad: universales que responden a la mayoría de los solutos; específicos-selectivos con respuesta a un grupo particular de sustancias.



- Recuperación de la muestra: en referencia a si la muestra es destruida o no.
- Modo de respuesta: dependientes de flujo de masa (cantidad de soluto independientemente de la cantidad de gas portador); dependientes de concentración (cantidad de soluto por unidad de volumen de gas portador).
- Proceso de detección: ionización; óptico-espectroscópico; electroquímico.

#### 4.8.6.1. Detector de micro captura de electrones ( $\mu$ ECD)

Cuando los compuestos ingresan al detector se produce una disminución de la intensidad de la corriente que circula por él. Este efecto es similar a la absorbancia que presentan las sustancias coloreadas y sigue una ecuación del tipo de la Ley de Beer. Este sistema de detección es muy empelado cuando se desea obtener una alta sensibilidad y selectividad con compuestos halogenados, nitrogenados o fosforados, lo que coincide con las estructuras de una gran cantidad de plaguicidas y a la vez da respuesta a hidrocarburos y otros carbonilos conjugados. Para este tipo de cromatografía la muestra debe contener una fase gaseosa electrófora. Este es un sistema donde se detectan partículas  $\beta$  por absorción de especies que contienen halógenos, nitrilos, nitratos, organometales y dobles enlaces conjugados. Las partículas  $\beta$  son emitidas por una fuente de  $^{63}\text{Ni}$ , los electróforos las absorben reduciendo la corriente, siendo esta la base de la respuesta (figura 7) [20].



**Figura 7.** Detector de micro captura de electrones. Tomado de: <http://www.chem.agilent.com/cag/feature/5-98/feature.html>.

#### **4.9. ANÁLISIS DE COMPUESTOS VOLÁTILES (VOC's)**

Las técnicas más usadas para la determinación de VOC's son extracción líquido-líquido (LLE, solo para THM's), inyección acuosa directa (DAI), espacio de cabeza (HS) y Purga y trampa (PAT). Cada una de estas técnicas involucra diferentes fases de equilibrio antes del análisis por cromatografía de gases, este método tiene ventajas y desventajas.

El método de LLE involucra el equilibrio de los THM's entre la fase polar del agua y la fase orgánica no polar. DAI es sin duda el más simple, que no implica concentración o extracción antes del análisis por cromatografía de gases. HS (método estático) implica una partición entre la concentración de los VCO's en la muestra de agua y la concentración en la fase gaseosa arriba del agua. De acuerdo con estos métodos una cantidad del espacio de cabeza sobre la muestra es eliminado e inyectado directamente en un cromatógrafo de gases, por lo tanto sólo el equilibrio líquido-gas está involucrado. PAT (método de espacio de cabeza dinámico) implica la concentración de volátiles, los cuales son compuestos orgánicos relativamente no solubles en trampa adsorbente [32].

##### **4.9.1. Espacio de cabeza (HS)**

En HS, una muestra de agua es transferida a un vial con espacio de cabeza, sellado y depositado en un termostato para manejar las componentes volátiles con HS para tratar las muestras. Una alícuota de la fase de vapor es introducida con una jeringa hermética a los gases en el equipo de cromatografía de gases, con columna capilar.

El análisis de HS ha sido empleado por muchos años. Un equilibrio es establecido para cada componente orgánico volátil entre las fases gaseosa y acuosa. A bajas concentraciones el ratio de concentración en la fase gaseosa a la concentración en la fase acuosa es constante (coeficiente de partición) y es único para cada compuesto orgánico.

##### **4.9.2. Extracción líquido-líquido**

Es la preparación de muestra más comúnmente usada en análisis de agua, el método LLE puede ser llevado a cabo manualmente por agitación de la muestra con un solvente orgánico en una separación con embudo o automáticamente, usando una extracción continua líquido-líquido. El método LLE puede consumir mucho tiempo y usualmente utiliza solventes tóxicos, por otra parte, la separación entre la fase orgánica y la fase acuosa es usualmente complicada por la formación de emulsiones.

#### **4.9.3. Inyección acuosa directa**

El método de inyección acuosa directa (DAI) ha sido desarrollado por Grob et al (Temmerman y Quaghebeur, 1990). El método de inyección incluye 1  $\mu\text{L}$  de una solución estándar dentro del equipo de GC. La muestra pasa directamente de la jeringa dentro de un inyector caliente donde ésta se vaporiza [32].

#### **4.9.4. Purga y trampa**

El método 524.2 de la U.S. EPA, es el que describe la identificación y cuantificación de VOC's en superficies de agua, lodos, Sólidos, sedimentos y aguas potables

El método de purga y trampa es aplicable a un amplio rango de compuestos orgánicos 61 compuestos orgánicos volátiles entre los cuales se encuentran los THM's. Tales compuestos son extraídos o purgados de la muestra por burbujeo de un gas inerte (helio) a través de la muestra acuosa. Estos componentes son atrapados en un tubo que contiene material absorbente adecuado (la trampa). Cuando se haya completado la purga, el tubo adsorbente se calienta y se retroactiva con helio para desorber los componentes de la muestra atrapada, dentro de una columna capilar para el análisis por cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas [43].

Las ventajas de utilizar los métodos espacio de cabeza (Hs) o purga y trampa (PAT) es que incluye mínima preparación de la muestra, reproducibilidad y ofrece gran sensibilidad. Otros beneficios es que incrementan la vida útil de la columna y reducen en tiempo de análisis [32].

### **4.10. PARÁMETROS ANALÍTICOS DEL MÉTODO**

Se conoce como estandarización al proceso mediante el cual se realiza una actividad de manera standard o previamente establecida. El término estandarización proviene del término standard, aquel que refiere a un modo o método establecido, aceptado y normalmente seguido para realizar determinado tipo de actividades o funciones. Un estándar es un parámetro más o menos esperable para ciertas circunstancias o espacios y es aquello que debe ser seguido en caso de recurrir a algún tipo de acción.

El término de estandarización tiene como connotación principal la idea de seguir entonces el proceso standard a través del cual se tiene que actuar o proceder [33].

#### 4.10.1 Parámetros de calidad

Los parámetros de calidad son los criterios cuantitativos que se utilizan para decidir si un método es adecuado o no para resolver un determinado problema analítico. Son por lo tanto los criterios que se utilizan en la validación de los métodos analíticos (para demostrar su validez en la resolución de un problema analítico). Los parámetros de calidad son la materialización, o expresión numérica de características o indicadores de calidad de los métodos tales como la precisión, exactitud, sensibilidad, selectividad, etc [34].

**Tabla 3.** Parámetros de calidad estudiados en métodos analíticos.

Atributo de calidad	Parámetro a medir
Precisión	Desviación estándar absoluta, desviación estándar relativa, coeficiente de variación, varianza.
Exactitud	Error absoluto, error relativo, porcentaje de recuperación.
Sensibilidad	Pendiente de recta de calibrado.
Selectividad	Coeficiente de selectividad.
Robustez	Desviación estándar absoluta, desviación estándar relativa, coeficiente de variación, varianza.

#### 4.10.2. Precisión

La precisión del método se puede definir como el grado de concordancia entre los resultados obtenidos cuando un método se aplica, repetidamente y desde el principio, sobre distintas porciones representativas de una misma muestra. La precisión mide el error aleatorio de un método. La precisión del método puede estimarse de varias formas:

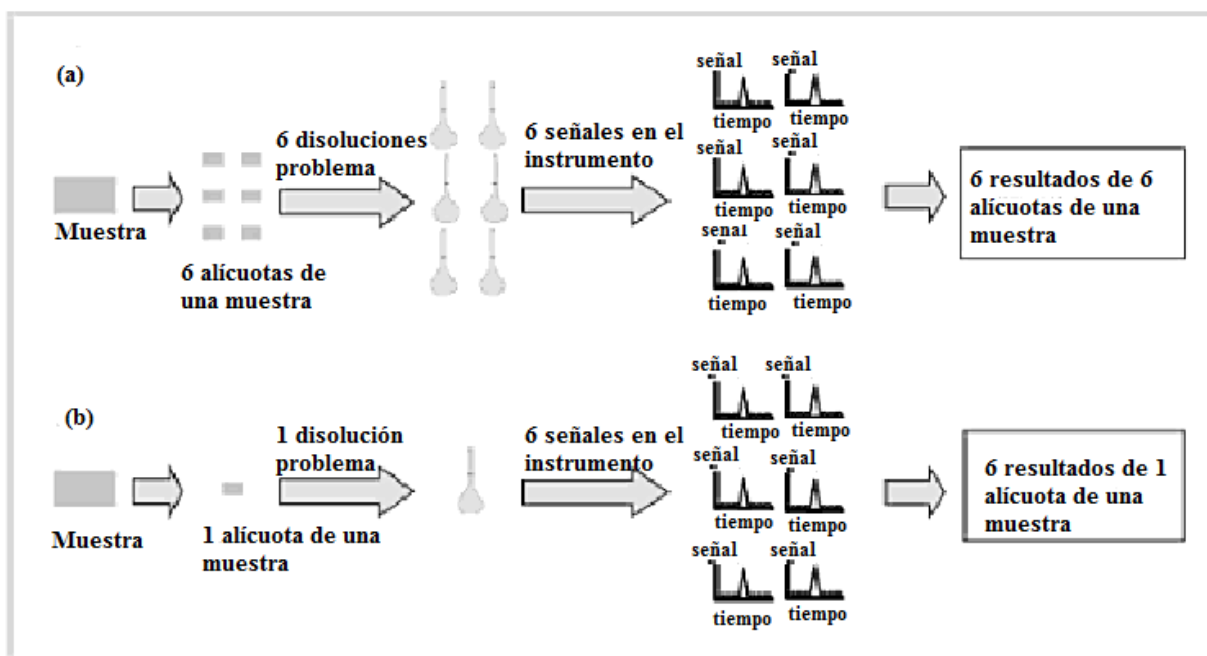
- **Repetibilidad del método:** Grado de concordancia entre los resultados obtenidos cuando el método es aplicado a la misma muestra repetidas veces por un único analista en un tiempo breve.
- **Precisión intermedia:** Grado de concordancia entre los resultados obtenidos cuando el método es aplicado a la misma muestra repetidas veces por un único analista en distintos días.
- **Reproducibilidad:** Grado de concordancia de los resultados obtenidos cuando el método es aplicado a la misma muestra repetidas veces por analistas distintos en laboratorios diferentes y en distintos días.

Los estudios de precisión deben hacerse a tres niveles de concentración, por lo general el 80,100 y 120% de la concentración esperada de analito en la muestra (concentración normal de trabajo), analizando tres porciones representativas de

una muestra de cada nivel. Otra forma de evaluar la precisión es analizando por lo menos seis porciones representativas de una muestra a la concentración normal de trabajo. La precisión del método se expresa como la desviación estándar absoluta (sd), varianza (cuadrado de la desviación estándar), desviación estándar relativa (RSD) o coeficiente de variación (CV).

$$Sd = \sqrt{\frac{(\sum X_i - \bar{X})^2}{(n-1)}} \quad (\text{Ecuación 4.3})$$

No hay que confundir la precisión de un método con la repetibilidad instrumental que puede definirse como el grado de concordancia entre resultados obtenidos para una disolución problema medida repetidamente en el mismo equipo, y un breve período de tiempo, por un único analista (figura 8). La falta de repetibilidad instrumental puede deberse a variaciones en la cantidad de disolución introducida en el instrumento y a variaciones en la respuesta del mismo (en cromatografía, por ejemplo, se suelen hacer al menos diez inyecciones repetidas de una disolución para estimar la repetibilidad instrumental) [34].



**Figura 8.** Repetibilidad. (a) Repetibilidad del método, (b) Repetibilidad instrumental. Tomado de: Sierra Alonso I et al [34].

A partir de los parámetros de precisión es posible calcular la incertidumbre específica de un resultado (U) que se define como el intervalo simétrico alrededor de dicho resultado que describe el rango de valores en que éste puede encontrarse, si el método se repite, con un determinado nivel de confianza.

$$U = t \times \frac{sd}{\sqrt{n}} \quad (\text{Ecuación 4.4})$$

Donde el parámetro t de Student dependerá de los grados de libertad (n-1) y del nivel de confianza requerido, expresado en porcentaje o como probabilidad (normalmente 95%, P=0,05). Para una confianza del 95%, la incertidumbre también puede calcularse de manera simplificada como dos veces la desviación estándar, aunque si n (número de resultados obtenidos) es pequeño puede haber cierta divergencia entre la U calculada con ambas expresiones.

Los valores aceptables para la precisión de un método analítico dependen de la concentración del analito en la muestra, lo que determina la dificultad del problema analítico, del número de repeticiones del ensayo y del método que se esté utilizando. Por ejemplo, un CV del 10% en la determinación de mercurio en un pescado donde éste se encuentra en cantidades traza, puede ser aceptable mientras que el mismo CV para la determinación de mercurio en un mineral, donde se encuentra como componente mayoritario, podría no ser aceptable [34].

#### 4.10.3. Exactitud

La exactitud de un método (también denominada sesgo o bias para n<30) se puede definir como la capacidad de dicho método para rendir resultados próximos al valor real o teórico ( $\mu$ ). La exactitud mide el error sistemático del método y se puede expresar en términos absolutos (error sistemático absoluto,  $E_a$ ) como la diferencia entre el valor medio medido (media de n resultados obtenidos con el método aplicado a n alícuotas de la misma muestra) y el valor teórico ( $\mu$ ), o en términos relativos (error sistemático relativo,  $E_r$ ) que indica el porcentaje que representa el  $E_a$  respecto al valor teórico.

$$E_a = \bar{X} - \mu \quad (\text{Ecuación 4.5})$$

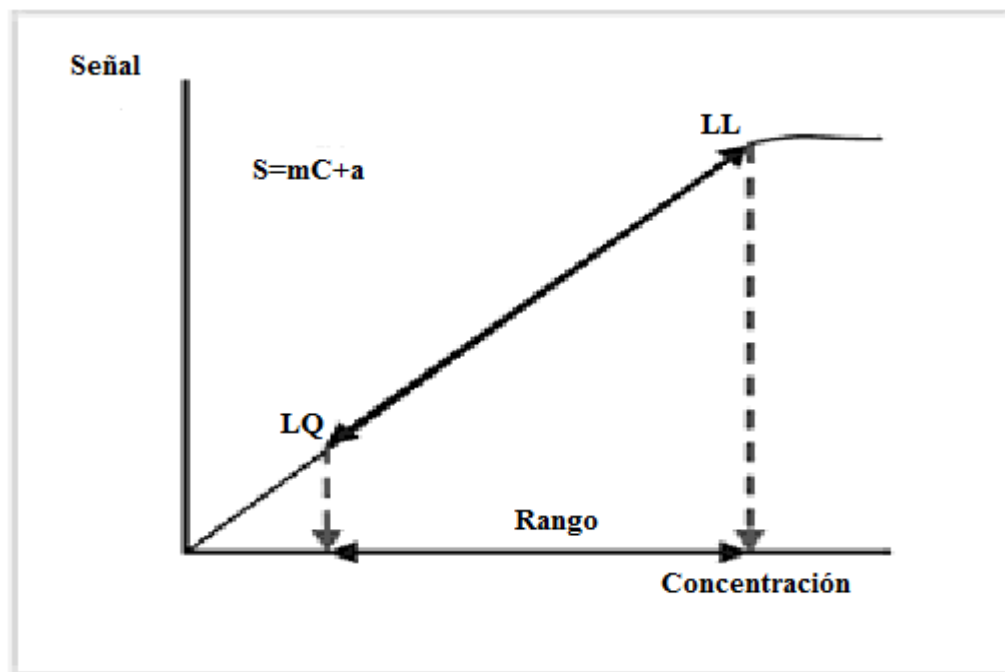
$$E_r(\%) = \frac{E_a}{\mu} \times 100 \quad (\text{Ecuación 4.6})$$

Otra forma de determinar la exactitud de un método es comparar los resultados obtenidos con el método cuya exactitud se quiere conocer, con los resultados obtenidos con un segundo método validado, el cual debe tener una exactitud bien definida y establecida (por ejemplo, un Método Oficial de Análisis). Para ello, se analizan con ambos métodos seis muestras por triplicado a la concentración normal de trabajo. Se comprueba si los métodos tienen una precisión parecida, sin diferencias significativas [34].

#### 4.10.4. Rango

El rango o intervalo lineal (Figura 9) es el intervalo de concentraciones útil para un método analítico en el que la pendiente de la recta obtenida se mantiene constante. Dicho intervalo se extiende desde la concentración más pequeña de analito con la que pueden realizarse las medidas con una exactitud y precisión

adecuadas, (límite de cuantificación, LQ) hasta la concentración en la que la curva de calibrado se desvía de la linealidad (límite de linealidad, LL).



**Figura 9.** Intervalo lineal o rango. Tomado de: Sierra Alonso I et al [34].

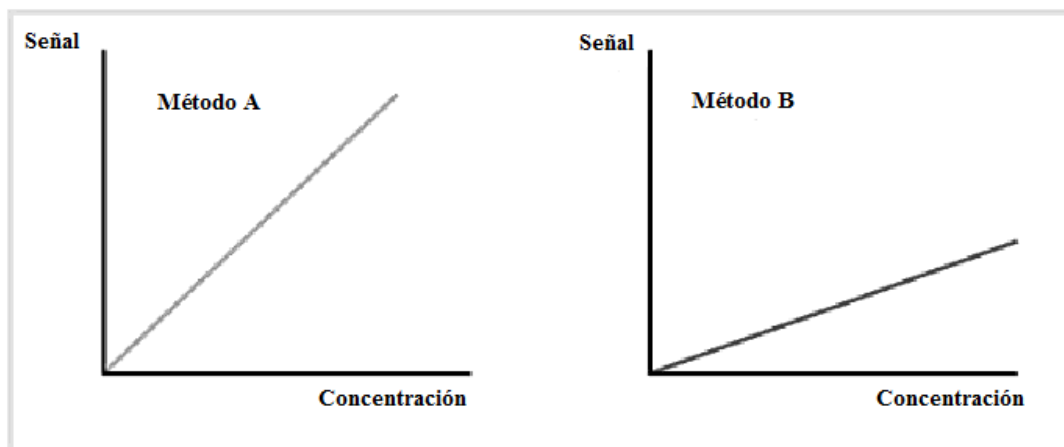
Para que un método sea aplicable, debe tener un rango de, al menos, dos órdenes de magnitud. Es necesario verificar el rango comprobando que se obtiene una precisión y exactitud igual de aceptable cuando el método se aplica a muestras con una concentración de analito en los extremos del rango que cuando se aplica a muestras que contienen una concentración de analito que se encuentra en el centro del rango [34].

#### **4.10.5. Sensibilidad**

Mide la capacidad de un método para distinguir pequeñas diferencias en la concentración del analito. Los factores que determinan la sensibilidad son la pendiente de la recta de calibrado y la precisión, de manera que si dos métodos tienen igual precisión será más sensible el que tenga una recta con mayor pendiente (figura 10) y si dos métodos tienen pendiente será más sensible el que presente mayor precisión. La sensibilidad de un método puede expresarse como:

- **Sensibilidad de la calibración** ( $m$ ). Es la pendiente de la recta de calibrado.

- **Sensibilidad analítica** ( $\gamma$ ). Se expresa como la pendiente de la recta de calibrado dividida entre la desviación estándar de las medidas (precisión).



**Figura 10.** Comparación de dos métodos con diferente sensibilidad de calibración. Tomado de: Sierra Alonso I et al [34].

La sensibilidad de calibración tiene la ventaja de que es independiente de la concentración (puesto que la recta es lineal, la pendiente es igual para todas las concentraciones). Sin embargo, tiene la desventaja de que no tiene en cuenta la precisión de las medidas. Por su parte, la sensibilidad analítica tiene la ventaja de ser insensible a los factores de amplificación. Por ejemplo, al aumentar la ganancia de un instrumento por un factor de 2, el valor de la pendiente se incrementará en dos veces, pero este aumento vendrá acompañado de un aumento en la desviación estándar de las medidas, por lo que la sensibilidad analítica se mantendrá constante. La desventaja es que  $\gamma$  generalmente depende de la concentración, ya que la desviación estándar de las medidas puede variar con ellas [34].

#### 4.10.6. Límite de detección y límite de cuantificación

El límite de detección ( $LD$ ) es la concentración mínima de analito que proporciona una señal en el instrumento que difiere significativamente de la señal del blanco. Dado que existen diversas formas de interpretar la expresión “que difiera significativamente” se han descrito distintos modos para calcular el  $LD$ .

Una forma de calcular el  $LD$ , para un nivel de confianza del 95%, se basa en estimar la mínima señal analítica distinguible ( $S_d$ ) como la señal medida del blanco analítico ( $S_M$ ), procedente de al menos 20 medidas, más un múltiplo de 3 de la desviación estándar del blanco ( $sd_{bl}$ ).

$$S_d = S_{bl} + 3sd_{bl} \text{ (Ecuación 4.7)}$$



A una señal  $S_d$  le corresponde una concentración que es el  $LD$ , lo que se consigue sustituyendo en la recta de calibrado. Si la señal del blanco es cero o coincide con el valor de la ordenada en el origen de la recta de calibrado, la expresión para el cálculo del  $LD$  quedaría según la siguiente ecuación:

$$LD = \frac{3S_d}{m} \quad (\text{Ecuación 4.8})$$

El límite de cuantificación (también llamado límite de determinación) es la concentración mínima de analito que pueden cuantificarse con exactitud y precisión aceptable. El  $LQ$  puede considerarse como el límite inferior del intervalo lineal o rango. Su cálculo se realiza a partir de la señal mínima cuantificable ( $S_q$ ) que es la señal medida del blanco analítico ( $S_{bl}$ ), procedente de al menos 20 medidas, más un múltiplo 10 de la desviación estándar del blanco ( $S_{bl}$ ).

$$S_q = S_{bl} + 10 \, sd_{bl} \quad (\text{Ecuación 4.9})$$

A una señal  $S_q$  le corresponde una concentración que es el  $LQ$ , lo que se consigue sustituyendo en la recta de calibrado. Si la señal del blanco es cero o coincide con el valor de la ordenada en el origen de la recta de calibrado, la expresión para el cálculo del  $LQ$  quedaría de acuerdo a la siguiente ecuación [34].

$$LQ = \frac{10sd_{bl}}{m} \quad (\text{Ecuación 4.10})$$

#### 4.10.7. Selectividad

La selectividad puede definirse como la capacidad de un método analítico para originar resultados que dependan de forma exclusiva del analito. Indica el grado de ausencia de interferencias debidas a otras especies contenidas en la matriz de la muestra. La selectividad se relaciona con la exactitud, ya que las interferencias causan errores sistemáticos por exceso o por defecto que conducen a resultados inexactos.

Generalmente, ninguna técnica analítica (clásica o instrumental) está exenta de interferencias por lo que la muestra debe someterse a una serie de tratamientos para eliminar, o minimizar, los efectos de estas interferencias. Por otro lado, la cuantificación de la selectividad de un método es compleja ya que se precisa un estudio sistemático de todas las probables causas que pueden conducir a un resultado erróneo.

El efecto que produce la interferencia en la recta de calibrado depende de su relación con el analito. Decimos que la interferencia es aditiva cuando produce un efecto que es independiente de la concentración del analito. En este caso, la recta de calibrado tiene una ordenada en el origen distinta de cero (positiva o negativa) siendo paralela a la que se obtendría en ausencia de la interferencia. Por otro lado, decimos que la interferencia es proporcional cuando el efecto depende de la

concentración del analito, por lo que en este caso se observa un cambio en la pendiente de la recta (que puede ser mayor o menor) en comparación con la que se obtendría en ausencia de la interferencia [34].

Hay varias formas de expresar cuantitativamente la selectividad de un método, mediante la relación máxima tolerada y mediante el coeficiente de selectividad (también llamado relación de sensibilidades).

La **relación máxima tolerada** ( $RT$ ) de un interferente,  $I$ , es la relación de concentraciones del interferente,  $I$ , y del analito,  $A$ , que causa un error tal en el resultado que éste se encontrará en el límite superior o inferior del intervalo dado por la incertidumbre específica del resultado (resultado  $\pm$  incertidumbre)

$$RT = \frac{C_I}{C_A} \quad (\text{Ecuación 4.11})$$

Por otro lado, si la señal que origina el interferente se produce por un mecanismo similar a la que produce el analito, es posible construir para  $I$  una recta de calibrado propia. Entonces, la selectividad del método para la interferencia,  $I$ , en relación al analito,  $A$ , se puede definir como el **coeficiente de selectividad** ( $\kappa_{I,A}$ ) que viene dado por la ecuación:

$$\kappa_{I,A} = \frac{m_I}{m_A} \quad (\text{Ecuación 4.12})$$

El coeficiente de selectividad puede calcularse fácilmente si es posible determinar  $m_I$  y  $m_A$  de manera independiente. Si no es posible medir  $m_I$ , puede medirse la señal total en presencia de cantidades conocidas y del analito del interferente y despejar ( $\kappa_{I,A}$ ) de acuerdo con las siguientes ecuaciones:

$$S_T = (m_A C_A + m_I C_I) + b \quad (\text{Ecuación 4.13})$$

$$S_T = m_A (C_A + \kappa_{I,A} C_I) + b \quad (\text{Ecuación 4.14})$$

#### 4.10.8. Linealidad

Linealidad de un método analítico es su habilidad para proporcionar resultados que sean, directamente o mediante transformación matemática, proporcionales a la concentración de analito presente en la muestra dentro de un rango determinado.

La linealidad de un método analítico se determina mediante el tratamiento matemático de los resultados obtenidos en el análisis de disoluciones patrón con diferentes concentraciones conocidas de analito incluidas en el rango.

El rango de un método analítico se puede definir como intervalo de concentraciones, incluyendo la más baja y la más alta, en el cual se pueden realizar determinaciones del analito con adecuada precisión, exactitud y linealidad [50].

El coeficiente de correlación indica el grado de relación entre las variables, con este coeficiente se busca determinar qué tan bien una ecuación lineal, o de otro tipo, describe o explica la relación entre las variables. Si todos los valores de las variables satisfacen con exactitud una ecuación se dice que las variables están en perfecta correlación o que hay una correlación perfecta entre ellas. Los valores del coeficiente de correlación se encuentran en un intervalo entre 0 y 1, siendo el valor más cercano a 1 el que representa una mejor linealidad.

El coeficiente de variación es otra medida de variabilidad que es también conocido como la desviación estándar relativa, el cual es un indicativo de error relativo, es decir, una estimación del error dividida por una estimación del valor absoluto de la cantidad medida. Los errores relativos se utilizan con frecuencia al comparar las precisiones de los resultados que tienen diferentes unidades o magnitudes, y resultan de nuevo importantes en los cálculos de la propagación de errores [34].

#### **4.10.9. Coeficiente de correlación de Pearson**

El coeficiente de correlación de Pearson mide el grado de asociación lineal entre dos variables medidas en escala de intervalo o de razón, tomando valores entre -1 y 1. Valores próximos a 1 indicarán fuerte asociación lineal positiva: a medida que aumentan los valores de una de las variables aumentan los de la otra; valores próximos a -1 indicarán fuerte asociación lineal negativa: a medida que aumentan los valores de una de las dos variables disminuyen los de la otra, y valores próximos a cero indicarán no asociación lineal, lo que significa que no puede existir otro tipo de asociación [52].

## **4.11. PARÁMETROS DE CALIDAD DEL AGUA**

### **4.11.1. Parámetros Físicos**

#### **4.11.1.1. Turbiedad**

Como su nombre lo indica, este parámetro mide el grado en que la luz es absorbida o reflejada por el material suspendido, por lo que la podemos considerar como una medida del efecto de los sólidos suspendidos en el cuerpo de agua. La turbiedad no es una medida directa de la cantidad de sólidos suspendidos, puesto que la turbiedad es función de la forma y características de la superficie del material suspendido.

El efecto que la turbiedad causa en el agua es que interfiere con la penetración de la luz, por lo que afecta el proceso de fotosíntesis.

#### **4.11.1.2. Color**

Se supone que el agua pura no tiene color; sin embargo, los sólidos suspendidos, así como los disueltos en el agua, determinan su color. Los sólidos suspendidos brindan un color denominado aparente, mientras que los sólidos disueltos proporcionan el color verdadero [37].

Los ácidos húmicos, la madera, las hojas, los óxidos de hierro, los óxidos de manganeso son, entre otros, los elementos que proporcionan diferentes colores el agua.

Dentro de los impactos en un cuerpo de agua, que se pueden citar se tienen los siguientes:

- No brinda apariencia estética
- El agua con ciertos colores no se puede utilizar en algunos procesos industriales, como lavado, manufacturera de papel, bebidas, procesos alimenticios, producción textil o plásticos
- El color verdadero es causado por sustancias orgánicas que demandan cloro, y reducen seriamente la eficiencia del cloro como desinfectante.

#### **4.11.1.3. Temperatura**

La temperatura es un parámetro muy importante en la vida del cuerpo de agua, pues la existencia de la biota depende directamente de la temperatura. La biota tiene rangos de tolerancia para diferentes factores: acidez, cantidad de nutrientes, porcentaje de humedad y temperatura. Asimismo, la temperatura tiene efectos

directos o indirectos sobre la mayoría de las reacciones químicas y bioquímicas que ocurren en el agua y la solubilidad de los gases en el agua. El efecto de un cambio en la temperatura se manifiesta en un cambio en la cantidad de nutrientes, así como gases solubles, de los cuales el más importante es el oxígeno. Si la temperatura aumenta, se aceleran las reacciones que envuelven la disolución de sólidos, pero decrece la solubilidad de los gases, por lo que no se oxidan los elementos orgánicos.

Ejemplo de lo anterior son algunos procesos industriales, como el agua utilizada en las plantas termoeléctricas para enfriamiento, al ser desechadas en ríos o quebradas, a altas temperaturas; alteran la temperatura del cuerpo de agua receptor. Lo que provoca disminución en la cantidad de oxígeno soluble en el agua [37].

#### **4.11.2. Parámetros Químicos**

##### **4.11.2.1. Alcalinidad**

Es una medida de la cantidad de iones que se encuentran presentes en el agua, los cuales reaccionan para neutralizar los iones del hidrógeno. La alcalinidad se puede comparar con la habilidad del agua para neutralizar los ácidos.

Los iones más comunes son el carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ), bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) y óxido de hidrógeno ( $\text{OH}^-$ ).

Los efectos más notorios de la alcalinidad en el agua son el sabor amargo en el agua y las reacciones con algunos cationes del agua, lo cual produce obstrucciones en la tubería o sus accesorios, como codos o válvulas.

##### **4.11.2.2. Acidez**

El dióxido de carbono no combinado, ácidos orgánicos (tánico, húmico, urónico) ácidos minerales y sales de ácidos fuertes y bases débiles son responsables de la acidez de las aguas naturales. En consecuencia la medida de la acidez es la cantidad de bases fuertes por litro requerido para alcanzar un pH igual a una solución molar de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  equivalente al carbono orgánico total. EL pH del agua representa su acidez o alcalinidad cuyo factor más importante es habitualmente la concentración de bióxido de carbono. El pH de las aguas se debe a la naturaleza de los terrenos atravesados y varía entre 7.2 y 7.6. Aguas calcáreas tienen un pH elevado y las que provienen de terrenos pobres en calizas o silicatos su pH es próximo a 7.0. El pH de las aguas estancadas (lagos, pantanos, estanques y embalses) está influenciado por la vegetación y naturaleza química de los fondos [39].

#### **4.11.2.3. pH**

El pH o potencial de hidrógeno se define como el logaritmo negativo de actividad molar de los iones hidrógeno en una solución:  $\text{pH} = -\log[\text{H}^+]$ , siendo un indicador de la concentración de iones hidrógeno presentes en el agua, es decir, si un agua es más ácida o más básica, dicho de otra forma la escala de pH mide la acidez o alcalinidad de cualquier disolución, en nuestro caso concreto del agua. En disolución neutra el pH es igual a 7, en disolución ácida el pH es menor que 7 y en disolución alcalina el pH será mayor que 7. El pH del agua potable debe estar comprendido entre 6,5 y 9,5 [38].

#### **4.11.2.4. Carbono Orgánico Total (COT)**

Se denomina Carbono Orgánico Total (TOC, siglas en inglés) al carbón que forma parte de las sustancias orgánicas de las aguas superficiales. Actualmente existen muchas sustancias naturales y artificiales que contribuyen a incrementar los niveles de TOC en el ambiente, no obstante, esta sustancia puede ser descompuesta por microorganismos, durante el proceso de consumo de oxígeno.

En el laboratorio se puede calcular directamente la cantidad de Carbono Orgánico Total en una muestra de agua, a través de la medición de la cantidad del dióxido de carbono que se libera después del tratamiento con oxidantes químicos [35].

#### **4.11.2.5. COD**

El parámetro carbono orgánico disuelto, COD, se utiliza para caracterizar el material orgánico que está disuelto. Para aguas superficiales, el COD es de unos 5 ppm en promedio, aunque en aguas pantanosas puede alcanzar valores diez veces superiores, y para aguas residuales no tratadas, los valores típicos de COD son de cientos de ppm. El componente mayor de carbono orgánico en las aguas naturales, habitualmente, son los hidratos de carbono, si bien también están presentes otros tipos de sustancias como proteínas, y aldehídos, cetonas y ácidos carboxílicos de bajo peso molecular [36].

#### **4.11.2.6. Metales**

Los metales son elementos que se encuentran en el agua, los cuales se clasifican, según su efecto sobre el ser humano, en tóxicos y no tóxicos.

Los metales no tóxicos son el sodio, el hierro, el manganeso. Sin embargo, cualquiera de ellos en cantidades excesivas se puede convertir en elemento tóxico. Por ejemplo, el sodio en exceso causa un sabor amargo al agua, así como problemas en los riñones y corazón; es corrosivo para superficies metálicas y es tóxico para plantas. Por otra parte, el hierro y manganeso pueden causar problemas de olor y sabor en el agua.

Los metales tóxicos más conocidos son el plomo, mercurio, cadmio, arsénico y zinc, que causan problemas a la salud humana aún en cantidades pequeñas. Los metales se concentran en la cadena alimenticia y se biomagnifican al pasar de un nivel trófico a otro [37].

#### **4.11.2.7. Cloro residual**

El cloro no es sólo un importante desinfectante sino que también satisface otras necesidades en plantas potabilizadoras de agua. Puede reaccionar con aminoácidos, hierro, manganeso, sustancias proteicas, sulfuro y algunas sustancias productoras de olores y sabores, mejorando las características biológicas y puede prolongar las carreras de filtración cuando se practica la cloración antes de la filtración [40].

Con los procesos de cloración se obtienen dos tipos de cloro residual en el agua, esto es, cloro libre y combinado. El cloro residual libre, que se presenta cuando el agua es clorada íntegramente, puede existir en tres formas:

- Cloro Molecular ( $\text{Cl}_2$ ), en rangos de pH de 1 a 4.
- Ácido Hipocloroso ( $\text{OHCl}$ ), en rangos de pH de 1 a 9, siendo predominante el ácido Hipocloroso.
- Ión Hipoclorito ( $\text{OCl}^-$ ), que gana completa ascendencia sobre pH 9.

El cloro residual combinado se presenta como monoclaramina ( $\text{NH}_2\text{Cl}$ ), dicloramina ( $\text{NHCl}_2$ ) y tricloramina, también conocida como tricloruro de nitrógeno ( $\text{NCl}_3$ ) y actúa como agente oxidante menos activo y su acción bactericida es más lenta que la del cloro libre. El cloro residual combinado se forma cuando el proceso de cloración ocurre en presencia de compuestos de amonio, bien sea que se encuentren presentes en forma natural o que se agreguen artificialmente para tal propósito [40].

El agua potable deberá tener mínimo  $0,2 \text{ mg/dm}^3$  y un máximo de  $1,0 \text{ mg/dm}^3$  de cloro residual libre en la red, expresado como cloro ( $\text{Cl}_2$ ) y el cloro total deberá tener como máximo una concentración de  $1,2 \text{ mg/dm}^3$  [42].

La determinación de cloro residual puede ser realizada de acuerdo a preferencias personales por titulación o colorimétricamente [40].

#### **4.11.2.8. Demanda de cloro**

La demanda de cloro se define como la diferencia entre la cantidad de cloro aplicada al agua y la cantidad de cloro libre residual, combinado residual o total resultante al final de un específico periodo de contacto [41].

Las diferentes sustancias presentes en el agua, como lo es la materia orgánica y otros contaminantes, influyen en la demanda de cloro y complican el uso de cloro para la desinfección. Por ello es necesario agregar suficiente cloro no sólo para destruir organismos, sino también para compensar el cloro consumido por esas sustancias.

La demanda de cloro se debe a la gran variedad de reacciones entre el cloro activo y los compuestos presentes en el agua y también en algunas circunstancias a su propia descomposición [41].

Estas reacciones se pueden agrupar del siguiente modo:

- Las provocadas por la radiación solar.
- Las que se producen entre el cloro activo y los compuestos inorgánicos.
- Las reacciones del cloro activo con el amoníaco y el nitrógeno orgánico.
- Las producidas entre el cloro activo y los compuestos orgánicos.



## 5. METODOLOGÍA

### 5.1. ESTANDARIZACIÓN DEL MÉTODO

Para la estandarización del método cromatográfico se utilizó el cromatógrafo de gases Thermo Fisher Scientific Trace GC 1310 (figura 11) con detector de micro captura de electrones ( $\mu$ ECD), equipado con inyector, Split/Splitless con geometría optimizada, y con software Chromeleon 7.0. Se utilizó una columna Rtx-1701 (30m, 0.32mm ID 0.25  $\mu$ m) marca Restek y gas de arrastre Helio.



**Figura 11.** Imagen del Cromatógrafo de gases thermo 1310 del Laboratorio de Análisis de Aguas y Alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira.

### 5.1.1. Procedimiento de estandarización

Para estandarizar el método de determinación de trihalometanos se realizaron los siguientes ensayos:

#### 5.1.1.1. Identificación de los compuestos a evaluar

Para la identificación de los THM's, se utilizó un estándar de THM's de 200 mg/L marca Restek (ver anexo 4) al cual se le realizan diluciones sucesivas hasta conseguir un factor de dilución de 4000, es decir, una concentración de 0,05 mg/L utilizando las condiciones cromatográficas descritas en el estándar (ver anexo 4).

#### 5.1.1.2. Efecto de la rampa de temperatura

Se realizaron varios ensayos empleando diferentes rampas de temperatura, realizando una prueba previa con una velocidad de calentamiento relativamente elevada y cubriendo un rango de temperaturas muy amplio (ver tabla 4), y con esta prueba se determinó el rango de temperatura adecuado para lograr una buena separación entre los componentes.

A la vista de los resultados obtenidos, se podrá fijar mayor precisión del intervalo de temperatura a utilizar, así como la velocidad de calentamiento, teniendo en cuenta que la mayor separación entre los componentes se obtiene siempre con velocidades de calentamiento muy pequeñas.

**Tabla 4.** Rampas de temperatura.

Rampas de temperatura	Rata (°C/min)	Temperatura (°C)	Tiempo de espera (min)
Rampa # 1 modo Splitless		60	5
	10	100	0
	20	225	0
Rampa # 2 modo Splitless		35	5
	8	120	0
	20	220	0
Rampa # 3 modo Splitless		30	5
	8	120	0
	20	220	0
Rampa # 4 modo Split 25:1		30	5
	8	120	0
	20	220	0
Rampa # 5 modo Split 25:1		30	5
	5	90	0
	40	220	0

### 5.1.1.3. Procedimiento estandarización de SPME

Los parámetros que se evalúan para estandarizar la SPME son los siguientes:

#### 5.1.1.3.1. Tiempo de extracción de la fibra

Para lograr la estandarización de este parámetro se sometió la fibra a diferentes tiempos de extracción, los cuales fueron 10, 20 y 30 minutos respectivamente. Los ensayos se realizaron utilizando las mismas condiciones cromatográficas (ver sección 6.2) para garantizar la correcta evaluación del tiempo de extracción.

La fibra que se utilizó para realizar los ensayos fue (PDMS-DVB 5% de 65µm de espesor).



**Figura 12.** Imagen de la fibra utilizada para la SPME

#### 5.1.1.3.2. Efecto de la cantidad de NaCl

Con la adición de la cantidad de NaCl, se evaluó el efecto de volatilización de los analitos presentes en la muestra y por tanto la adsorción de los mismos en la fibra, las concentraciones de NaCl evaluadas fueron 2,5 y 25% respectivamente.

#### 5.1.1.3.3. Efecto de la temperatura de desorción

Este parámetro se realizó con el fin de determinar cuál es la temperatura óptima la cual debe ser lo suficientemente elevada como para volatilizar completamente todos los componentes de la muestra, no debiéndose elevar más allá de un nivel el cual afecte a la columna teniendo en cuenta las especificaciones de la misma.

Se evaluó la temperatura del puerto de inyección para determinar el efecto que ejerce en la desorción de los analitos presentes en la fibra, se realizaron ensayos a 200° y 250 °C respectivamente.

#### **5.1.1.3.4. Efecto del volumen de muestra**

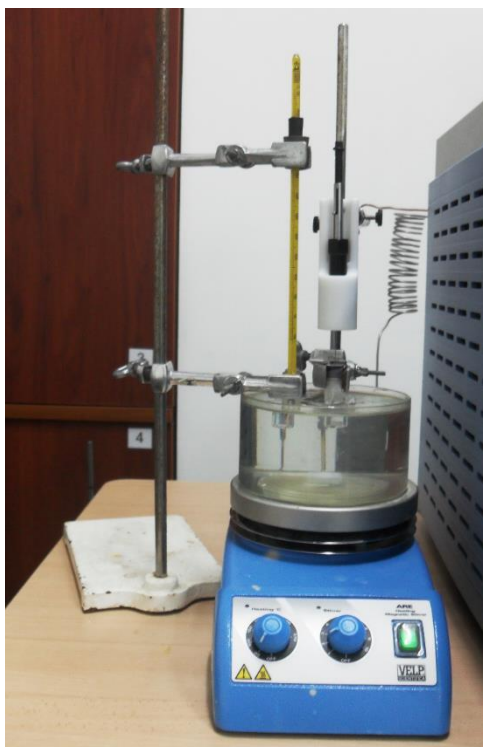
Se realizaron ensayos de la cantidad de muestra empleando 1 y 2 mL respectivamente, para determinar la variación de analito adsorbido en la fibra.

#### **5.1.1.3.5. Efecto de la agitación de las muestras**

En este ensayo se demostró cómo el efecto de la agitación facilita el transporte de los analitos presentes en la muestra acuosa hacia el espacio de cabeza y su posterior acercamiento a la fibra para ser adsorbidos por ésta.

Para evaluar la mejor adsorción de los analitos en la fibra, se utilizó un agitador con barra magnética y se realizaron ensayos para observar la variación de resultados cuando se somete la muestra a agitación (200 rpm) y cuando el ensayo es estático.

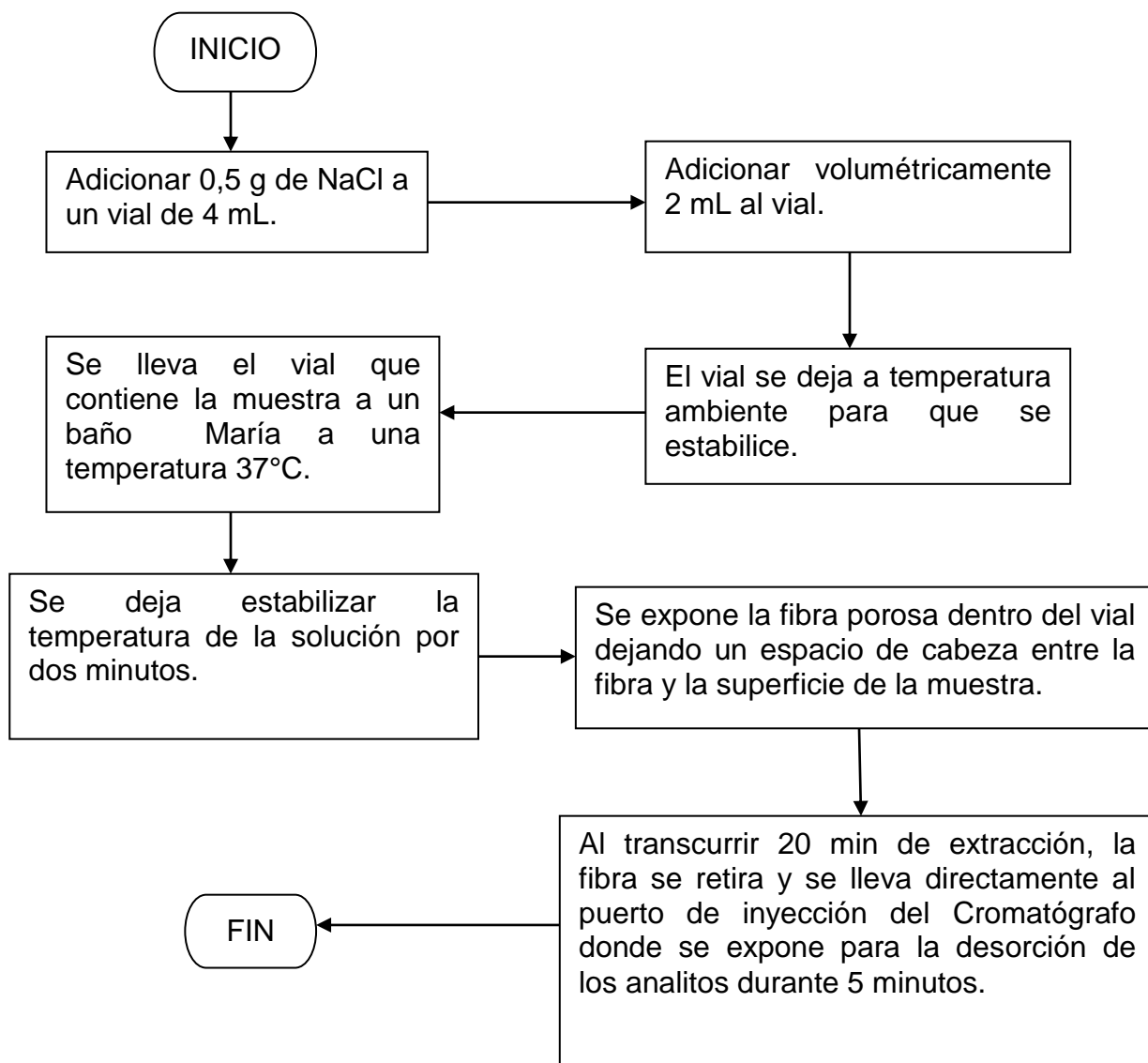
El montaje que se utilizó para la SPME se muestra en la figura 13



**Figura 13.** Imagen del montaje para SPME del Laboratorio de Análisis de Aguas y Alimentos de la Universidad Tecnología de Pereira.

Luego de establecer las condiciones de estandarización, se procesaron los patrones y las muestras de la siguiente manera.

#### 5.1.1.3.6. Preparación de los patrones y las muestras



- Para asegurar que la temperatura del baño maría y el de las muestras sean las establecidas, se tomó un vial de control que contiene agua y un termómetro. Se introduce en el baño maría.

## 5.2. PARÁMETROS ANALÍTICOS DEL MÉTODO

### 5.2.1. Linealidad

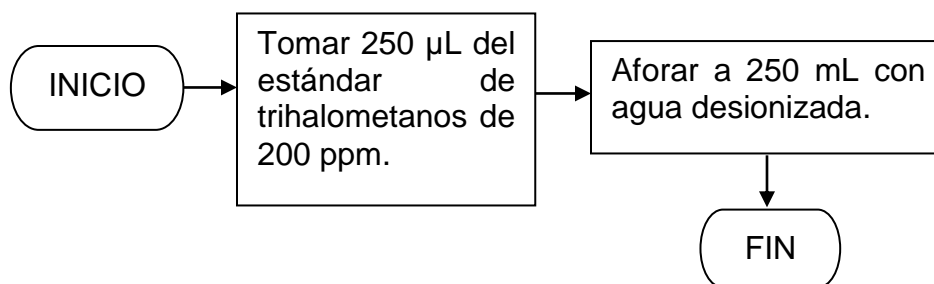
Para determinar la linealidad se evaluaron las curvas de calibración, con el fin de concretar si dichas curvas son apropiadas para realizar análisis confiables en el equipo, para ello se analizaron dos parámetros estadísticos como son el coeficiente de correlación y el coeficiente de variación (desviación estándar relativa), éste se determinó haciendo uso del coeficiente de correlación el cual se obtuvo del software chromeleon versión 7.0

Se realizaron una serie de ensayos preparando curvas de calibración a diferentes concentraciones en ppm, utilizando las condiciones cromatográficas determinadas (ver sección 6.2).

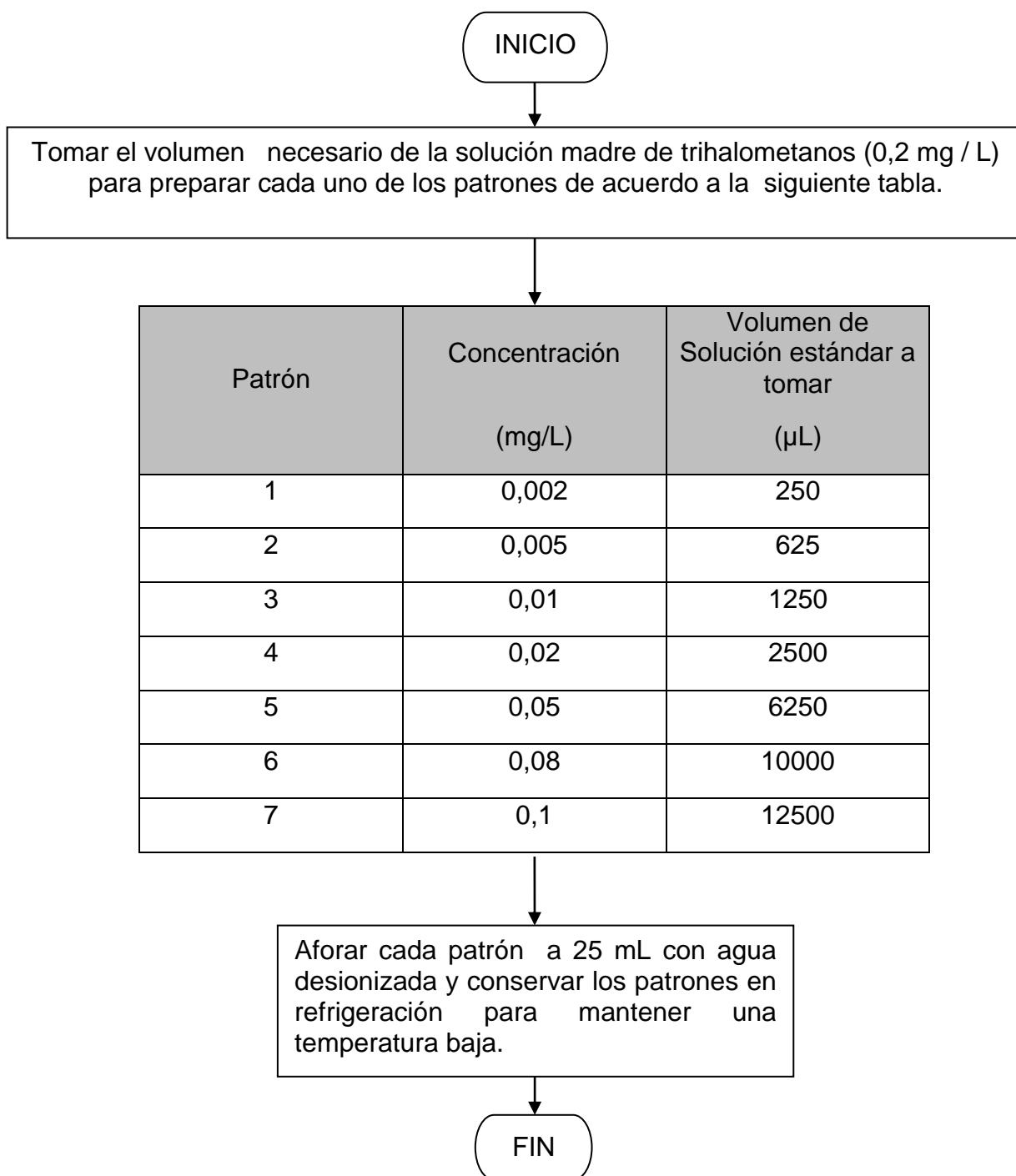
#### 5.2.1.1. Preparación de patrones de curva de calibración

Para preparar los patrones de THM's se utilizó un estándar de THM's de 200  $\mu\text{g/mL}$  marca Restek (ver anexo 4).

##### 5.2.1.1.1. Solución madre de trihalometanos de 0,2 ppm



#### 5.2.1.1.2. Patrones para la curva de calibración de trihalometanos



#### **5.2.2.2. Repetibilidad**

Para realizar este análisis se determinó la desviación estándar y la desviación estándar relativa, se trabajó con un estándar de 0,005 ppm el cual se analizó cuatro veces.

#### **5.2.2.3. Límite de detección y cuantificación**

El límite de detección se determinó multiplicando por un factor de tres (3) la desviación estándar anteriormente calculada y el límite de cuantificación se determinó multiplicando por un factor de diez (10) la desviación estándar de 0,005 ppm. Para calcular el límite de detección y el límite de cuantificación se utilizaron las siguientes ecuaciones.

$$LOD = 3 \times s \text{ (Ecuación 5.1)}$$

$$LOQ = 10 \times s \text{ (Ecuación 5.2)}$$

#### **5.2.2.4. Porcentaje de recuperación**

Los procedimientos de adición de estándar envuelven la adición de cantidades conocidas de una sustancia pura a porciones de muestra previamente analizadas, repitiendo el análisis usando los mismos reactivos, instrumentos y técnica [51].

Para determinar el porcentaje de recuperación, se utilizó una muestra (913-1) proporcionada por el laboratorio de análisis de aguas y alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira, a la cual se le determinó el área de cada compuesto.

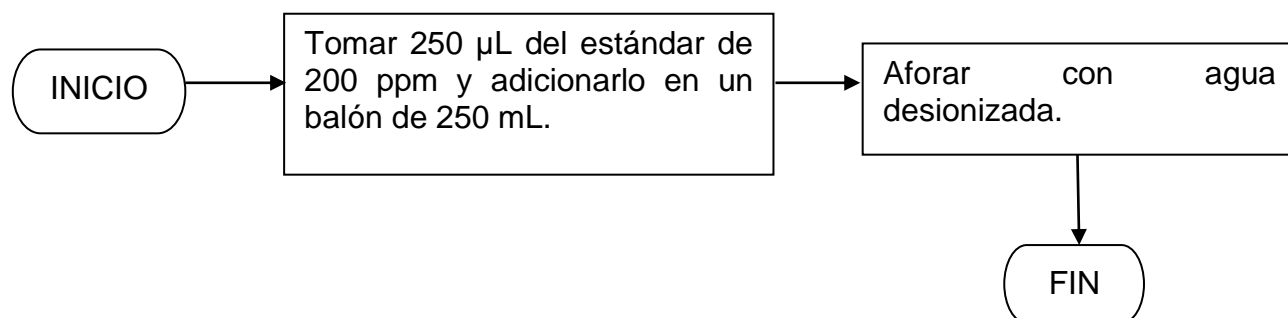
Además se preparó un estándar de una concentración de 0,05 ppm y con este estándar se preparó un patrón adicionado el cual se leyó dos veces, teniendo en cuenta el siguiente procedimiento:

##### **5.2.2.4.1. Preparación del estándar adicionado**

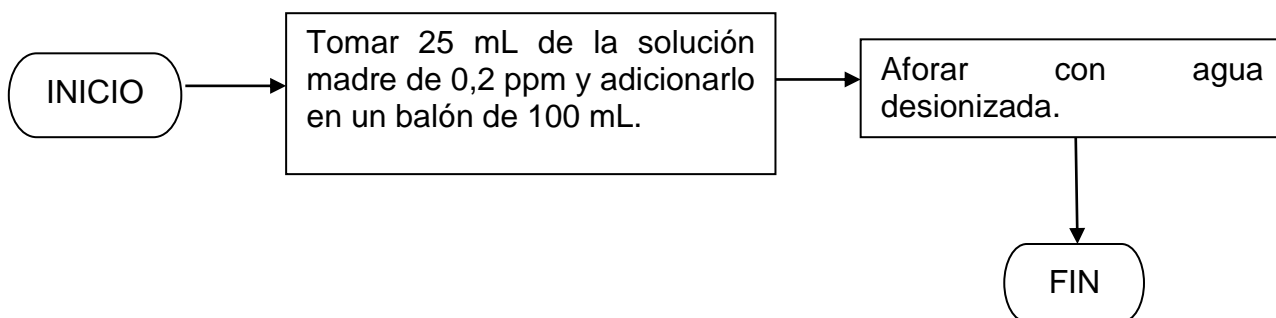
Para preparar la solución madre de THM's se utilizó un estándar de THM's de 200 µg/mL marca Restek (ver anexo 4).



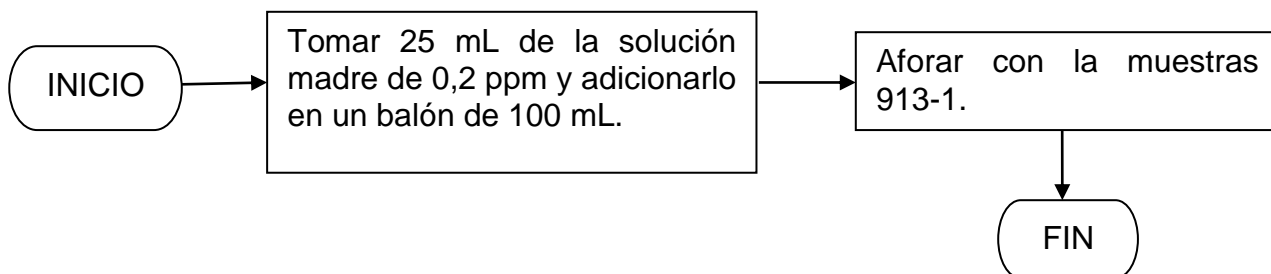
#### 5.2.2.4.1.1. Solución madre de 0,2 ppm



#### 5.2.2.4.1.2. Solución de 0,05 ppm



#### 5.2.2.4.1.3. Solución adicionada de 0,05 ppm



Para el calcular el porcentaje de recuperación se usó la siguiente ecuación.

$$\% \text{ de recuperación} = \frac{\text{Área estándar adicionado} - \text{Área de la muestra}}{\text{Área del estándar}} \times 100\% \text{ (Ecuación 5.3)}$$

## **5.2. INFLUENCIA DE LOS PARAMETROS DE CALIDAD EN LA FORMACIÓN DE THM'S**

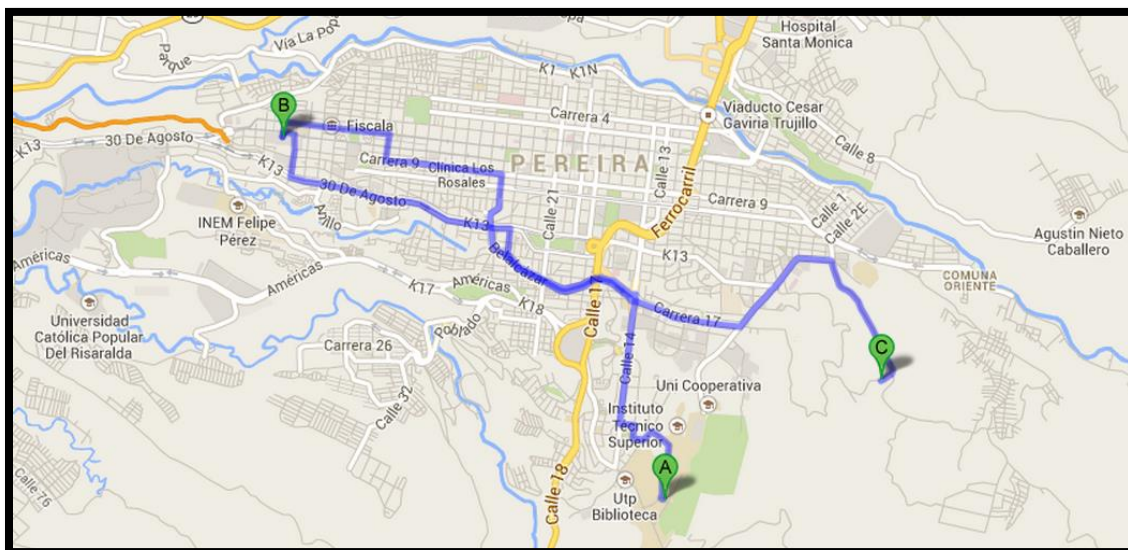
Para establecer la asociación y cuantificar la influencia de los parámetros de calidad como: temperatura, pH, Carbono Orgánico Total (COT), Carbono Orgánico Disuelto (COD), Ca, Mg, Cu, demanda de cloro, tiempo de cloración, distancia en la formación de los Trihalometanos (THM's).

Los parámetros de calidad mencionados anteriormente se escogieron con respecto a la formación de trihalometanos debido a que estos parámetros han sido estudiados anteriormente por Pauzi et al [56] y por Navalon et al [57]

### **5.3.1. Toma de muestras**

Para la toma de muestras se escogió un punto antes de la cloración (Planta de tratamientos de aguas y aguas, Písamo), un punto después de la cloración (Tanque de distribución Otún) y un punto en la red distribución (Tanque Consota). Estos tres puntos donde se tomaron las muestras fueron seleccionados debido a que son representativos de cada etapa del proceso de formación de los SPD.

Se realizaron treinta tomas de muestras en los puntos Písamo, Otún y catorce en el punto Consota debido a que se realizó un muestreo conjunto con el laboratorio de calidad de la planta de tratamientos de aguas y aguas de la ciudad de Pereira, por lo que se limitó el número de muestras en el punto Consota. Los puntos de muestreo se pueden observar en la figura 14.



**Figura 14.** Ubicación de los sitios de toma de muestras. A-) Edificio de aguas UTP B-) Red de distribución (Tanque Consota) C-) Planta de aguas y aguas (Tanques Písamo y Otún).

En cada punto se tomaron tres muestras, a las cuales se le realizaron los siguientes análisis:

- Parámetros físicos de calidad del agua: temperatura, turbiedad, color,
- Parámetros químicos de calidad del agua: pH, alcalinidad total, acidez, Carbono orgánico total (COT), Carbono orgánico disuelto (COD), determinación de metales (Ca, Mg, Cu), cloro residual, demanda de cloro y dosificación de cloro y determinación de THM's.

Los parámetros suministrados para las muestras tomadas antes de la cloración son proporcionados por la planta Písamo y los parámetros que corresponden a las muestras tomadas después de la cloración y en la red de distribución son suministrados por el laboratorio de calidad de la planta de aguas y aguas de la ciudad de Pereira.

Las muestras fueron tomadas y analizadas con el fin de determinar la influencia de los parámetros de calidad antes mencionados con respecto a la formación de los THM's.

Nota: En la planta Písamo no se suministra la medición del parámetro cloro residual ya que las muestras seleccionadas para el análisis corresponden a agua que no ha sido sometida al proceso de cloración. Para las muestras correspondientes a los tanques Otún y Consota, no se realiza la medición del parámetro de acidez, por tanto, no se tienen datos correspondientes al mismo.

### **5.3.2. Análisis de COT y COD**

Para realizar la determinación de Carbono Orgánico Total y Carbono Orgánico Disuelto, se utilizaron los procedimientos del Laboratorio de Análisis de Aguas y Alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira, descritos en el anexo 5.

Para realizar la medición de las muestras, se preparó una curva de calibración con concentraciones de 1, 5, 10, 15 y 20 ppm de ftalato de potasio. Estos patrones se leen a dos longitudes de onda 430 y 590 nm respectivamente para determinar la absorbancia corregida (ver anexo 5).

### **5.3.3. Análisis de metales**

Para realizar las determinaciones de calcio (Ca), magnesio (Mg) y cobre (Cu), se utilizaron los procedimientos del Laboratorio de Análisis de Aguas y Alimentos de la Universidad Tecnológica Pereira, descritos en el anexo 6.

### **5.3.4. Análisis estadístico**

Para el análisis de las muestras se utilizó el software IBM SPSS versión 19 y se utilizaron las siguientes pruebas estadísticas

#### **5.3.4.1. Coeficiente de correlación de Pearson**

Para determinar dicho coeficiente se plantearon las siguientes hipótesis:

$H_0 = \rho = 0$  (No hay correlación entre los datos)

$H_a = \rho \neq 0$  (Hay correlación entre los datos)

**Valor de significancia: 0,05 en un test de 2 colas**

$p \geq 0,05$  se acepta la hipótesis nula

#### **5.3.4.2. Análisis ANOVA**

Para este análisis se realizó una prueba de normalidad de los datos (Shapiro-Wilk), donde se plantearon las siguientes hipótesis:

$H_0$  = Los datos son normales

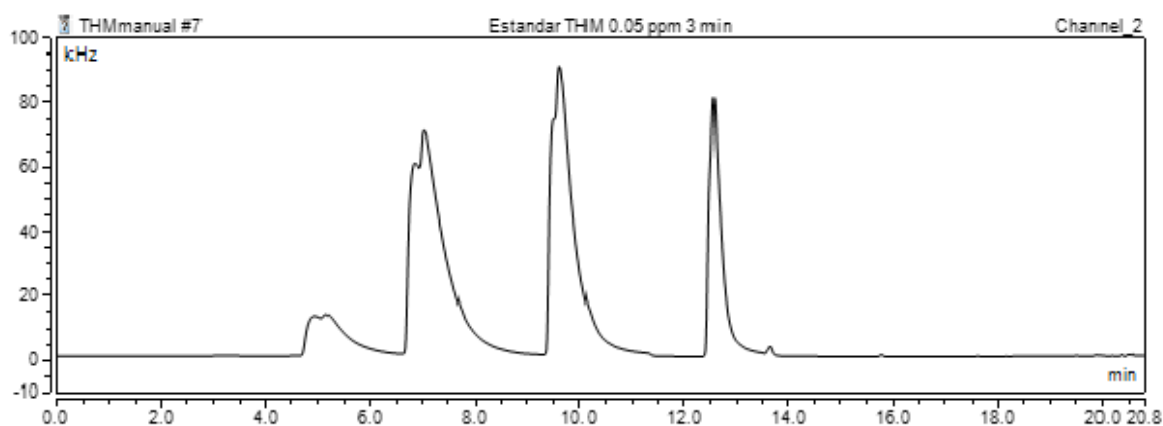
$H_a$  = No hay normalidad de los datos

**Valor de significancia= 0,05 en un test de 2 colas**

Posterior a ello se realizó un análisis con el método de KRUSKAL-WALLIS

## 6. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

### 6.1. IDENTIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS A EVALUAR

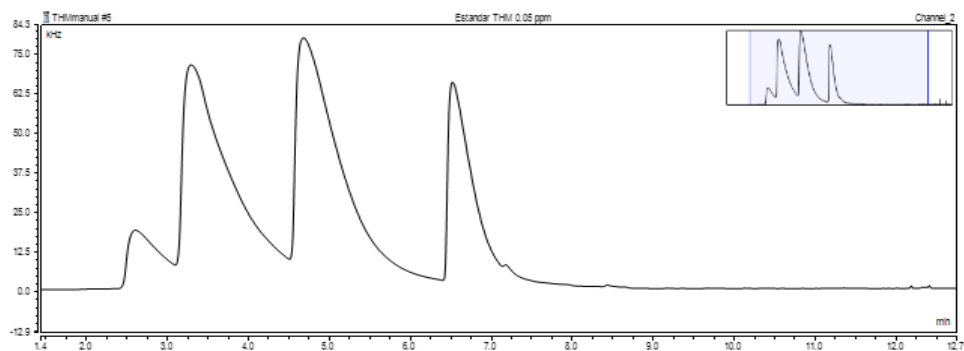


**Figura 15.** Identificación de compuestos

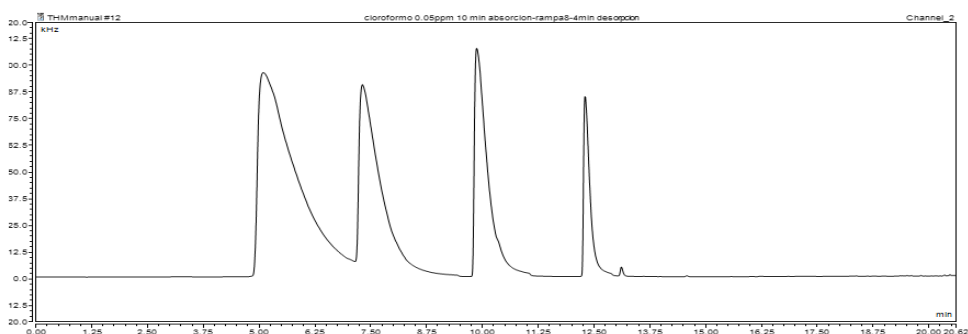
En el cromatograma obtenido se observan los cuatro compuestos de interés, los cuales se identificaron de acuerdo a la información suministrada por el estándar (ver anexo 5), donde se observa el orden de elución el cual es cloroformo, bromodiclorometano, dibromoclorometano y bromoformo respectivamente que a su vez corresponde con el resultado obtenido.

## 6.2. EVALUACIÓN DE LA RAMPA DE TEMPERATURA

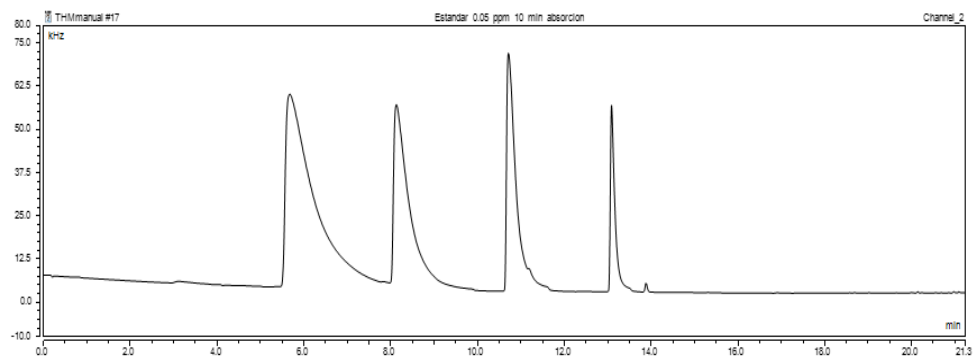
a



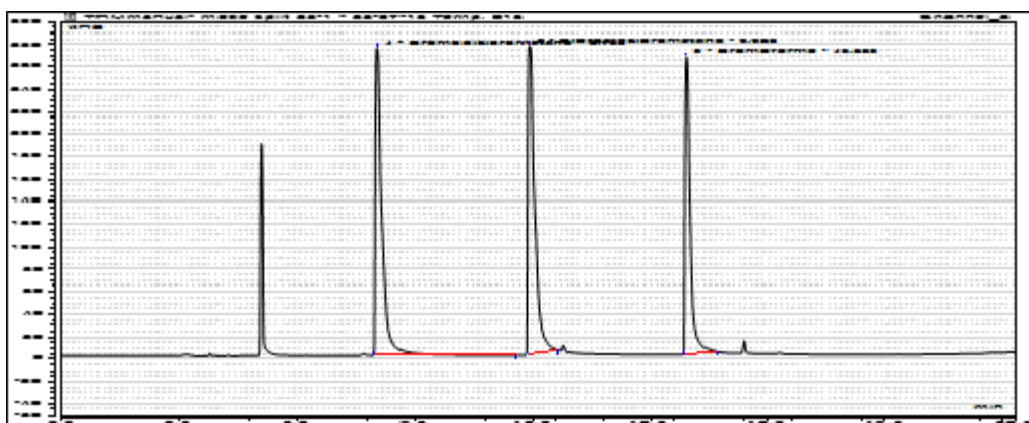
b



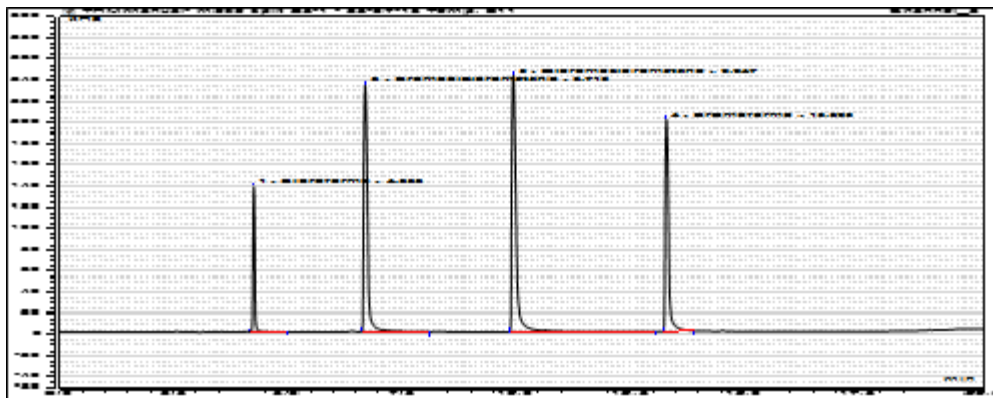
c



d



e



**Figura 16.** Resultado de la evaluación de las rampas de temperatura. a) Cromatograma rampa # 1. b) Cromatograma rampa # 2. c) Cromatograma rampa # 3. d) Cromatograma rampa # 4.

De los resultados obtenidos de la figura 16, se puede observar que se obtiene un cromatograma con los cuatro compuestos de interés el cual no presenta efecto de colas en el último ensayo, con lo que se nota claramente una mejora en la resolución de los picos, confirmando con esto que el modo de inyección influye en gran medida dado que al cambiarlo de Splitless a Split desaparecen los defectos presentados en la resolución de los cromatogramas anteriores.

Una gran cantidad de muestra ingresada en el análisis puede generar deformaciones en los picos, como se menciona en Vas et al [47], donde se afirma que la cantidad de muestra afecta la forma de los picos cromatográficos y una cantidad de muestra muy grande causa ampliación y colas en los picos. Además en estudios previos en Aguirre et al [46], se realiza el análisis en modo Split, lo cual está de acuerdo con los resultados obtenidos para este ensayo donde se demuestra que el modo Split es apropiado para este tipo de análisis ya que no se presentan deformaciones en los picos, no se presentan efectos de colas, dando como resultado cromatogramas con buena resolución.

Las condiciones de operación que se establecieron para realizar un óptimo análisis de THM's presentes como subproductos de desinfección de las aguas tratadas por medio del cromatógrafo de gases son las siguientes:

Temperatura del puerto de inyección: 250°C

Modo de inyección: Split

Tiempo de splitless: 1 minutos

Flujo de columna: 1 mL/min

Flujo de split: 25 mL/min

Tiempo de extracción de analitos: 20 minutos

Tiempo de desorción: 5 minutos

Temperatura del detector: 270°C

Make-up: 40 mL/min

**Tabla 5.** Rampa de temperatura utilizada para los ensayos de curvas de calibración en modo Split.

Rata (°C/min)	Temperatura (°C)	Tiempo de espera (min)
	30	5
5	90	0
40	220	0

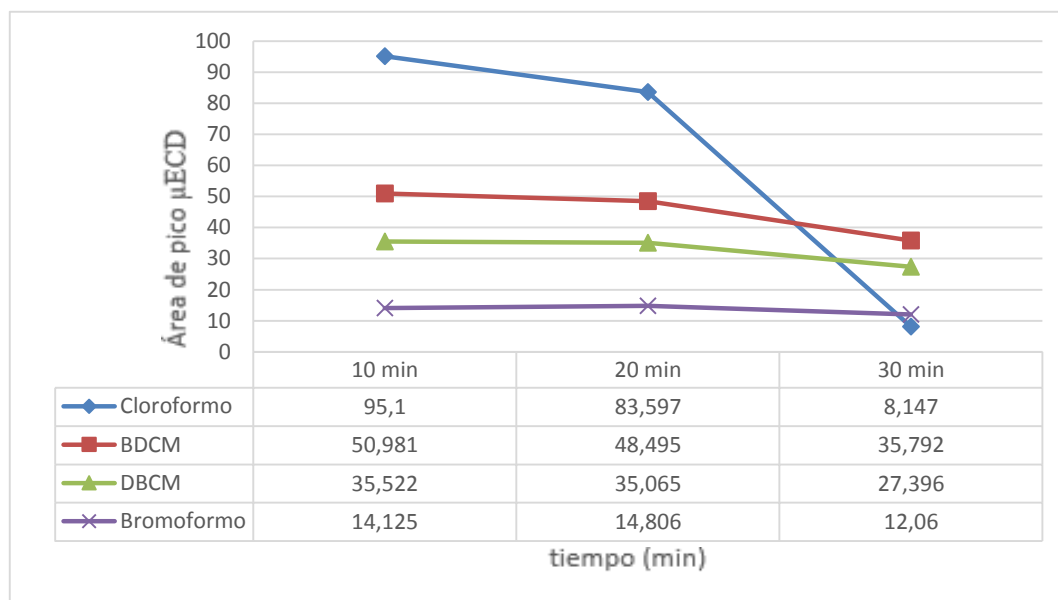
En este ensayo se decidió realizar cambios en la rampa de temperatura los cuales se pueden apreciar en la tabla 5, éstos se efectuaron con el fin de evaluar posibles mejoras para el coeficiente de correlación, el %RSD y también con dichos cambios se disminuyó el tiempo de análisis para cada muestra dado que a pesar de que en la primera rata se disminuyó el valor de 8 °C/min a 5 °C/min, en la segunda rata se aumentó al doble, siendo este aumento desde 20 °C/min/hasta 40 °C/min, con lo cual se logró reducir el tiempo de análisis.



### 6.3. PROCEDIMIENTO DE ESTANDARIZACIÓN DE SPME

#### 6.3.1. Tiempo de extracción de la fibra

Los resultados obtenidos para evaluar el tiempo de extracción de la fibra se muestran en el siguiente gráfico.



**Figura 17.** Efecto del tiempo de extracción desde 10 hasta 30 minutos. Temperatura de extracción 37°C, tiempo de desorción 5 minutos a 250°C. Estándar THM 0,05 ppm.

En la micro extracción en fase sólida, para lograr extraer una pequeña cantidad de analito, se utiliza un soporte sólido que se pone en contacto con la matriz de la muestra por un tiempo determinado. Si el tiempo es lo suficientemente prolongado, se establece un equilibrio de concentración entre la matriz de la muestra y la fase de extracción.

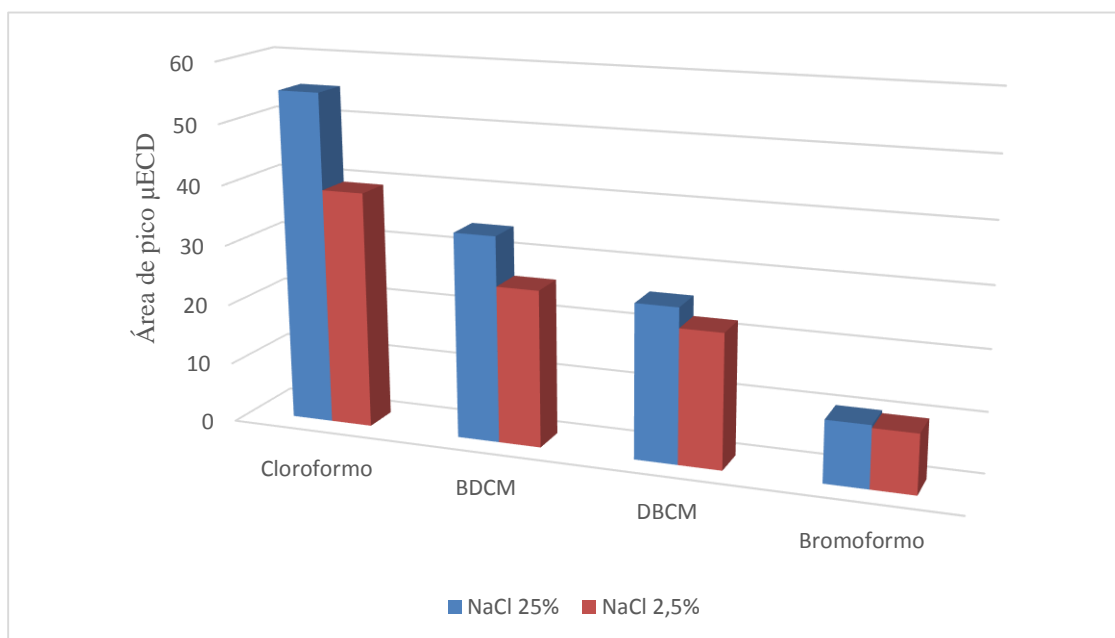
Cuando se logran las condiciones de equilibrio, al exponer la fibra por un tiempo más prolongado, se observa que no se adsorben mayores cantidades de analito en la fibra.

Según los resultados obtenidos y lo descrito anteriormente, se puede observar en la figura 17 que el tiempo de equilibrio está en el intervalo entre 10 y 20 minutos de adsorción y transcurrido este tiempo se nota claramente un decrecimiento significativo que se aprecia cuando se llega a los 30 minutos de adsorción, dado

que a medida que pasa el tiempo, la afinidad de los compuestos por adsorberse disminuye debido a que la temperatura de la fibra aumenta, resultado que está de acuerdo con lo encontrado por Pawliszyn et al [46], donde se afirma que un cambio drástico en el tiempo de equilibrio está asociado con un incremento en la temperatura lo que da como resultado un aumento en el coeficiente de difusión y a la vez resulta en un decrecimiento en la cantidad de analito adsorbido. Este decrecimiento está asociado con el hecho de que la constante de distribución decrece cuando se incrementa la temperatura. Los resultados obtenidos utilizando el tiempo de 20 minutos presentan una mejor reproducibilidad.

### 6.3.2. Efecto de la cantidad de NaCl

La cantidad de NaCl que se evaluó para las muestras fue de 2,5% y 25% obteniendo los siguientes resultados:

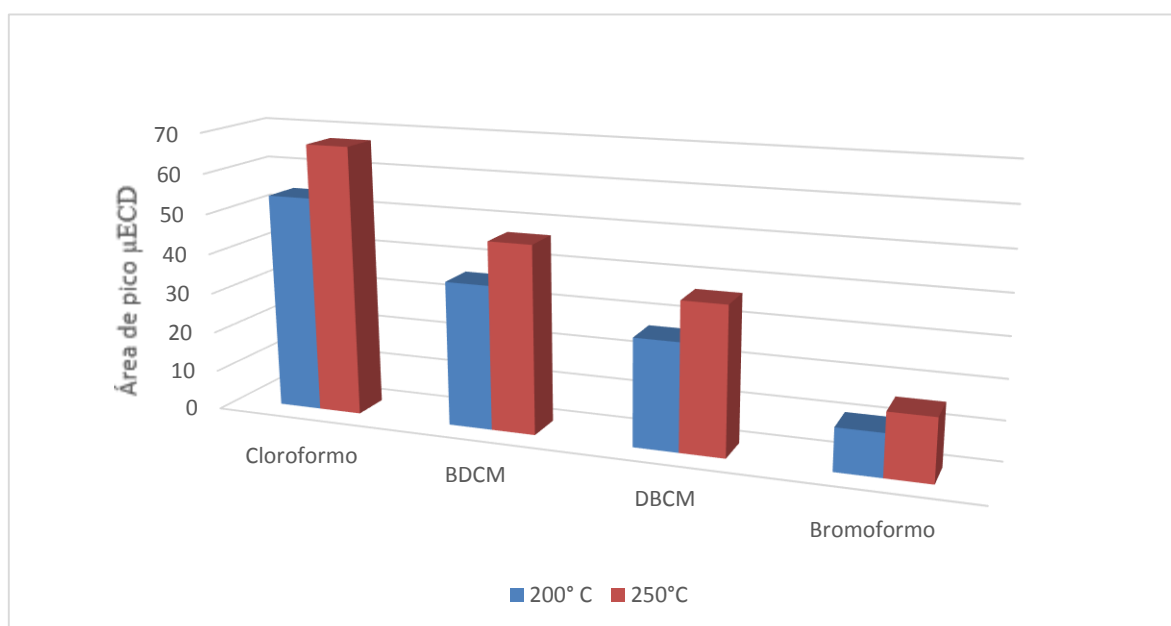


**Figura 18.** Comparación del efecto de volatilización de los analitos.

La adición de NaCl puede causar cambios en la presión parcial de vapor, la solubilidad, la conductividad térmica, la densidad, la tensión superficial de la solución la cual contiene los analitos. Cuando ocurren estos cambios, hay una variación del equilibrio líquido-vapor del sistema [45].

Al evaluar el efecto de volatilización de los analitos presentes en la muestra provocado por la adición de diferentes concentraciones de NaCl, 2,5% y 25% respectivamente se observa una mayor respuesta para la concentración de 25% como se puede observar en la figura 18, resultado que concuerda con lo encontrado por Bahri et al [45], quienes afirman que la adición de NaCl puede mejorar la eficiencia de extracción para los componentes, donde se estudió el NaCl a diferentes concentraciones y se obtuvo que la respuesta óptima para dichos componentes es con una adición de NaCl a 25%.

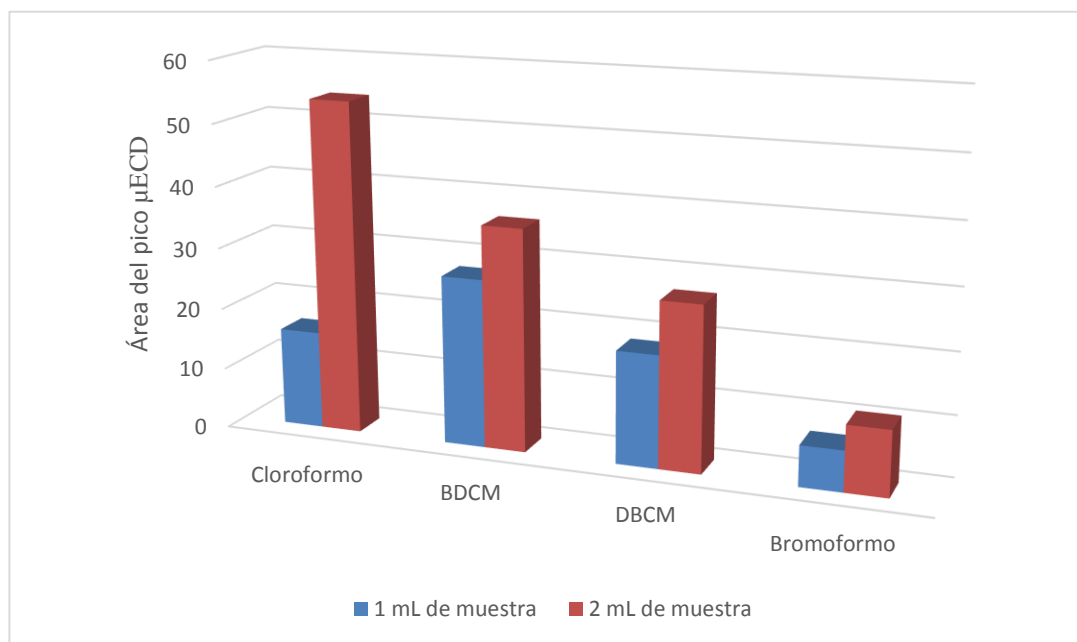
### 6.3.3. Efecto de la temperatura de desorción



**Figura 19.** Efecto de la temperatura de desorción

Según los resultados obtenidos de los ensayos llevados a cabo a 200° y 250°C respectivamente, los cuales se pueden observar en la figura 19, se puede concluir que la temperatura óptima de desorción es 250°C ya que ésta presenta una mayor eficiencia, resultado que concuerda con los parámetros de análisis determinados por Aguirre et al [46], donde se establece que la temperatura de 250°C es la seleccionada como la temperatura óptima de trabajo.

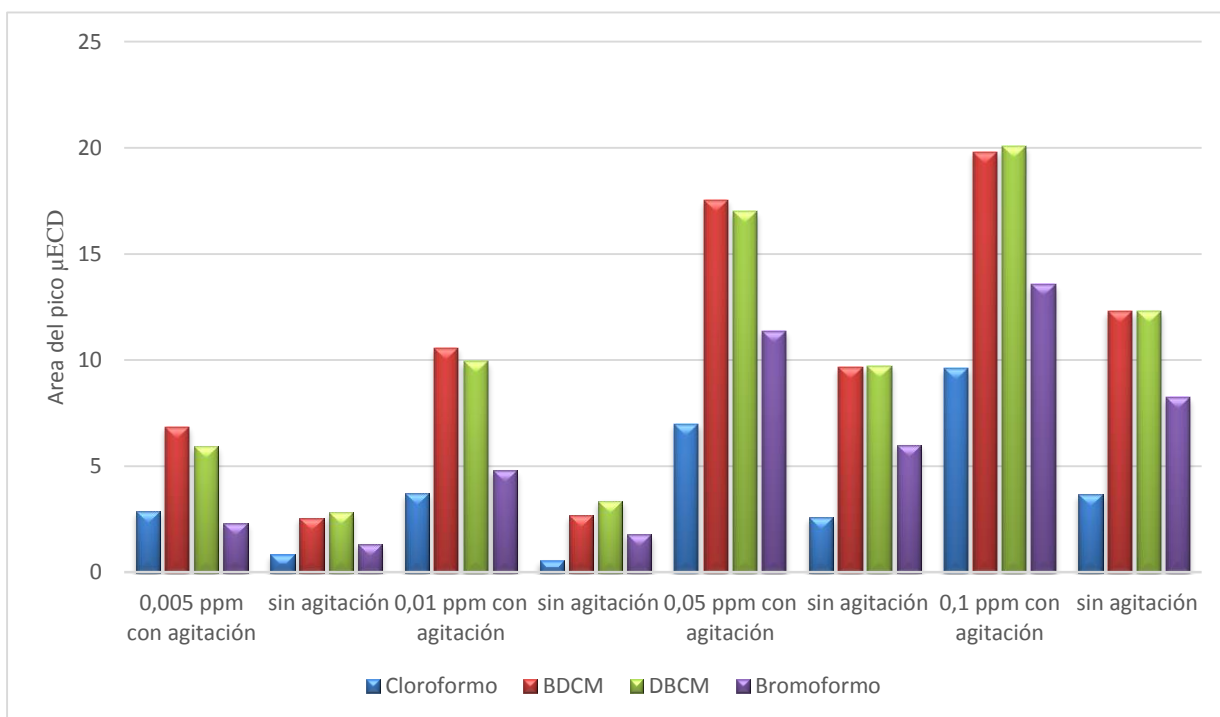
### 6.3.2. Efecto del volumen de muestra



**Figura 20.** Efecto del volumen de muestra.

Al realizar la comparación del volumen de muestra a utilizar en los análisis, se observa claramente que hay una mejor respuesta cuando se utiliza 2 mL en vez de 1 mL como se muestra en la figura 20, dado que en 2 mL existe una mayor cantidad de analitos presentes en la muestra. Los viales y el volumen de muestra utilizado para realizar este ensayo concuerda con lo desarrollado por Aguirre et al [46], en el cual para la evaluación de variables, se toman 2 mL de muestra y se transfieren a viales de 4 mL, los cuales contienen cloruro de sodio, lo cual se asemeja a los ensayos previamente realizados en este trabajo.

### 6.3.4. Efecto de la agitación de las muestras



**Figura 21.** Efecto de la agitación de las muestras.

En los ensayos realizados de los patrones a diferentes concentraciones, se evalúa el efecto que causa la agitación sobre éstos, como se observa en la figura 21 donde se comparan las áreas de los patrones con agitación y sin agitación, obteniendo como resultado que los patrones a los cuales se les realiza el proceso de agitación, tienen una mayor transferencia de analitos desde la muestra acuosa hacia la fibra obteniendo así una mayor respuesta, resultado que está de acuerdo con lo encontrado en Bahri et al [45], en el cual se afirma que la agitación de la muestra acuosa incrementa la eficiencia de extracción, dado que la agitación acelera la transferencia de los componentes desde la muestra acuosa hacia el espacio de cabeza y por lo tanto se ve reflejado significativamente en la respuesta en la lectura de THM's.

Luego de establecer las condiciones de operación óptimas para el análisis de THM's, se procede a determinar los atributos del método como se observa a continuación.

## 6.4. PARÁMETROS ANALÍTICOS DEL MÉTODO

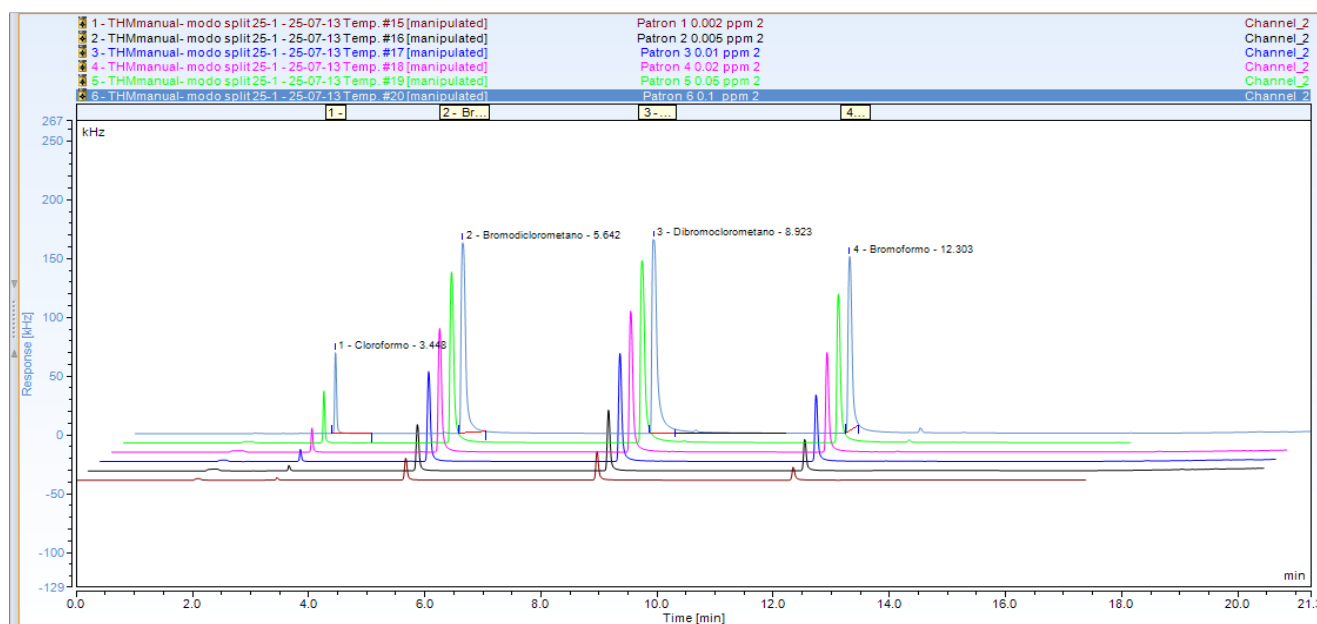
### 6.4.1. Linealidad

#### 6.4.1.1 Ensayos curvas de calibración

##### 6.4.1.1.1 Primer ensayo curva de calibración

Las concentraciones de la primera curva de calibración son las siguientes:

0,002 ppm- 0,005 ppm- 0,01 ppm- 0,02 ppm- 0,05 ppm- 0,1 ppm



**Figura 22.** Cromatograma de la primera curva de calibración en modo Split.

**Tabla 6.** Datos obtenidos de la primera curva de calibración en modo Split.

Compuesto	Coefficiente de correlación	%RSD*
Cloroformo	0,9984	4,8028
BDCM	0,9845	11,0902
DBCM	0,9732	13,9912
Bromoformo	0,9886	9,6662

%RSD\*. Porcentaje de desviación estándar relativa.

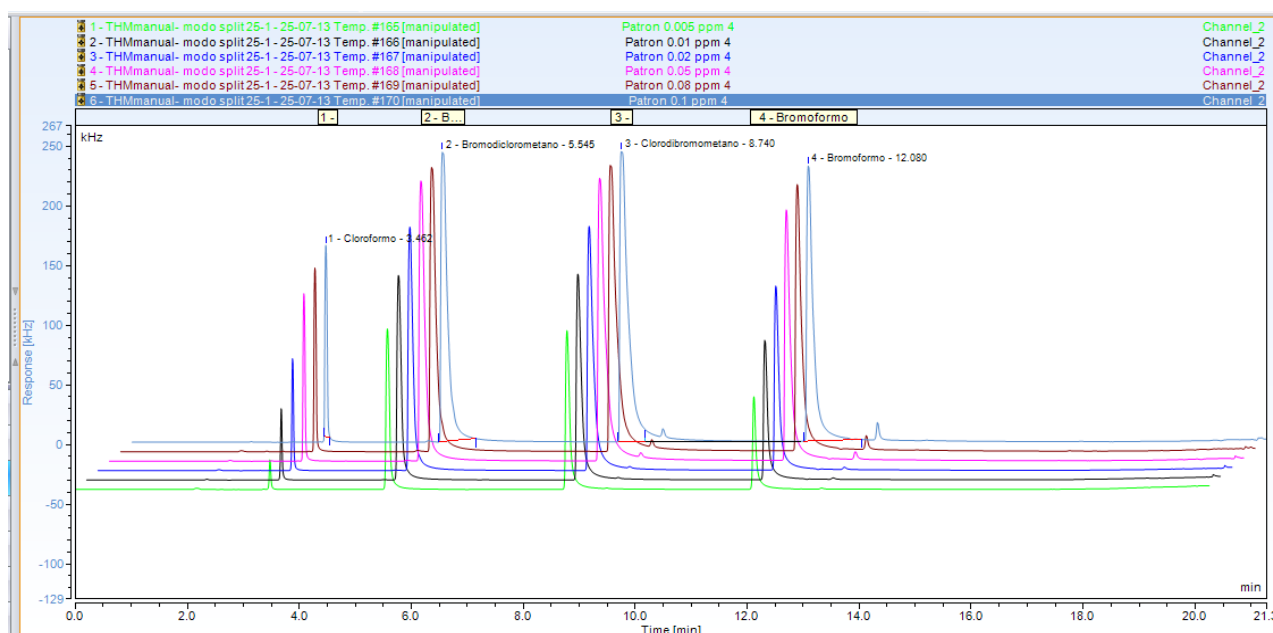
De los datos de la tabla 6, se observa que los valores del coeficiente de correlación y el %RSD para los compuestos analizados son aproximados con los valores de operación encontrados por Maia R et al [53] donde se obtuvo para el

coeficiente de correlación un intervalo entre 0,987 hasta 0,999 y el %RSD desde 4,8 hasta 10,0 y con los valores obtenidos en el trabajo desarrollado por Merib J et al [54] donde se encontró que el intervalo de operación del coeficiente de correlación oscila entre 0,9820 y 0,9972 y el %RSD entre 5,4 hasta 23,5; con lo que se puede concluir que los datos obtenidos en este trabajo para el coeficiente de correlación y el %RSD son adecuados para el desarrollo del método.

#### 6.4.1.2. Segundo ensayo curva de calibración

Las concentraciones de la segunda curva de calibración son las siguientes:

0,005 ppm- 0,01 ppm- 0,02 ppm- 0,05 ppm- 0,08 ppm y 0,1 ppm



**Figura 23.** Cromatograma de la segunda curva de calibración en modo Split.

**Tabla 7.** Datos obtenidos de la segunda curva de calibración en modo Split.

Compuesto	Coeficiente de correlación	%RSD*
Cloroformo	0,9943	7,3213
BDCM	0,9829	8,1143
BCM	0,9842	7,8802
Bromoformo	0,9954	5,7721

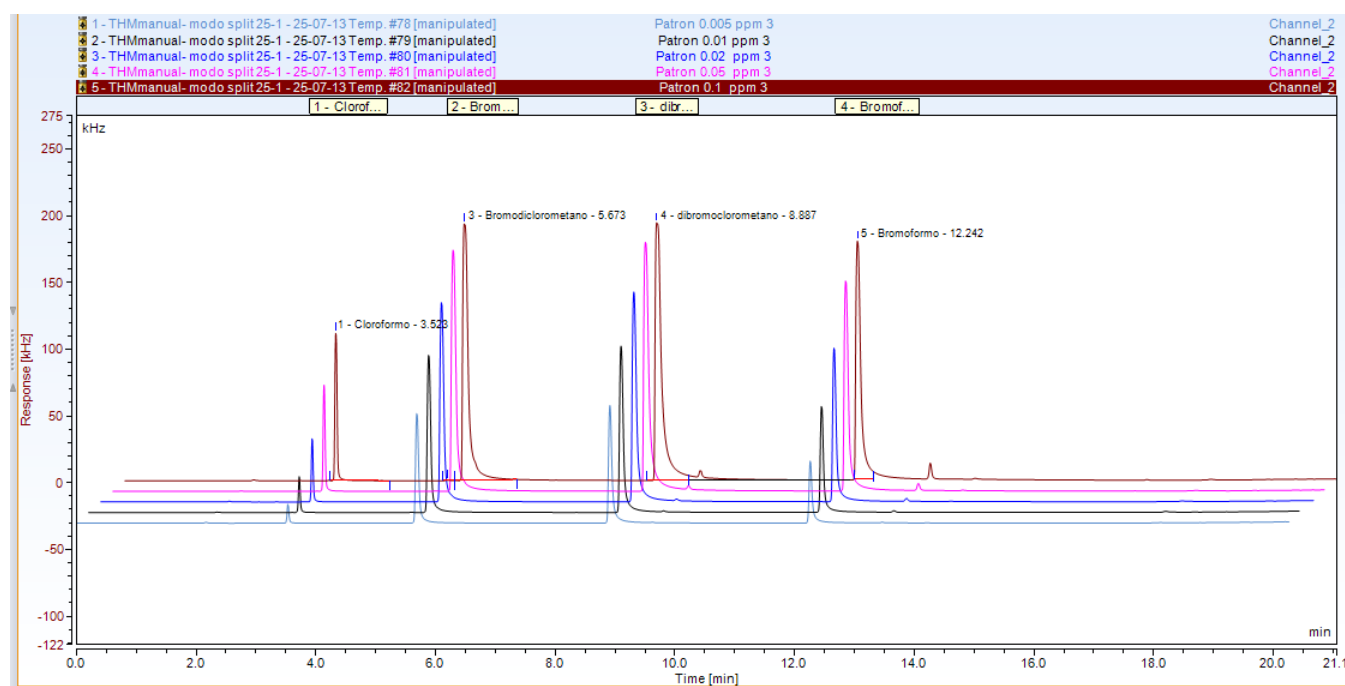
%RSD\*. Porcentaje de desviación estándar relativa.

De los resultados observados en la figura 23, se nota claramente que se mantiene una buena resolución de los picos y una buena separación de los mismos. Para este ensayo se incluyó un patrón más que en los ensayos anteriores, el cual está en una concentración intermedia entre 0,05 ppm y 0,1 ppm con el propósito de evaluar una posible mejora en el coeficiente de correlación y en el %RSD. De los resultados obtenidos de la tabla 7, se observa que no se presenta una mejora muy notoria en el coeficiente de correlación dado que comparándolo con el ensayo anterior solamente mejora dicho coeficiente para el bromoformo pero no se percibe una mejora para los demás compuestos, para el %RSD si se percibe una mejora en cada uno de los compuestos. A pesar de que se perciben mejoras en los %RSD se concluye que la adición de un nuevo patrón, no es esencial para obtener mejores valores del coeficiente de correlación dado que no existen diferencias apreciables entre este ensayo y el anterior, por lo cual se decide eliminar la inclusión de este último patrón para el siguiente ensayo.

#### 6.4.1.3. Curva final

Las concentraciones de la curva final de calibración son las siguientes:

0,005ppm- 0,01ppm- 0,02ppm- 0,05ppm- 0,1ppm



**Figura 24.** Cromatograma de la curva final en modo Split.

**Tabla 8.** Comparación coeficientes de correlación entre los modos lineal y cuadrático.



Compuesto	%RSD*	Coefficiente de correlación modo lineal	Coefficiente de correlación modo cuadrático
Cloroformo	2,3136	0,9943	0,9995
BDCM	5,6128	0,9829	0,9924
DBCM	6,8258	0,9842	0,9902
Bromoformo	4,2725	0,9954	0,9975

%RSD\*. Porcentaje de desviación estándar relativa.

En la figura 24 se observa el cromatograma de la curva de calibración que se obtiene al operar el equipo con las condiciones óptimas establecidas, obteniendo así picos cromatográficos con muy buenas separación y una muy buena resolución.

En la tabla 8 se observa que los valores tanto del coeficiente de correlación como el %RSD, presentan una mejora muy notable con respecto a los ensayos anteriores, por lo que se confirma que las condiciones utilizadas para este ensayo son las óptimas para realizar los análisis.

De acuerdo con los coeficientes de correlación mostrados en la tabla 8, se puede concluir que al utilizar el modo cuadrático se obtienen mejores resultados, ya que en la tabla 8 de la curva final se obtuvo un coeficiente de correlación promedio de 0,99 para los cuatro compuestos y este resultado concuerda con lo encontrado en Cho et al [48], donde se menciona que el coeficiente de correlación cuadrático es mejor que el lineal y que la pérdida de linealidad observada en este trabajo es probablemente debida a la sobrecarga de la capacidad de la fibra.

#### 6.4.2. Repetibilidad

Para determinar este parámetro se calculó la media de los cuatro análisis y esto se realizó para cada compuesto. Luego de esto se calculó la desviación estándar y la desviación estándar relativa; los resultados se observan en la tabla 9.

**Tabla 9.** Desviación estándar y desviación estándar relativa.

<b>Compuesto</b>	<b><math>\bar{X}</math>. <i>concentración</i> (<math>n = 4</math>)</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>%RSD*</b>
Cloroformo	0.0045	0.000414	9.2530
BDCM	0.0046	0.000489	10.6448
DBCM	0.0047	0.000579	12.4106
Bromoformo	0.0048	0.000492	10.2663

**%RSD\***. Porcentaje de desviación estándar relativa.

$\bar{X}$ . Concentración promedio en mg/L

Según los resultados obtenidos en la tabla 9, se puede observar que los valores de %RSD son satisfactorios de acuerdo con el rango de trabajo que por Maia R et al [53] , aunque los compuestos BDCM, DBCM y Bromoformo son un poco mayores al valor de 10, para este caso es aceptable dado que la diferencia no es muy significativa y además se aceptan dado que la técnica utilizada es manual por lo cual se presentan algunas variaciones entre ensayos dependiendo de varios factores, como son el analista y las condiciones ambientales ya que los compuestos son muy volátiles.

#### 6.4.3. Límite de detección (LOD) y cuantificación (LOQ)

**Tabla 10.** Límite de detección y cuantificación.

<b>compuesto</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>LOD</b>	<b>LOQ</b>
Cloroformo	0.00041366	0.001241	0.004137
BDCM	0.00048913	0.001467	0.004891
DBCM	0.00057859	0.001736	0.005786
Bromoformo	0.00049186	0.001476	0.004919

**LOD.** Límite de detección.

**LOQ.** Límite de cuantificación en mg/L.

De los resultados obtenidos en la tabla 10, se puede observar que los límites de detección y cuantificación son adecuados para este método ya que estos valores garantizan la detección del estándar más bajo de la curva dado que dichos valores son menores a la concentración de 0,005 ppm, la cual corresponde al valor del estándar antes mencionado. De los valores obtenidos para éstos límites se concluye que el método estandarizado es aplicable a muestras de agua dado que

dichos valores satisfacen lo establecido por la resolución 2115 de 2007 para trihalometanos la cual permite un valor máximo de los mismos de 0,2 ppm como se aprecia claramente los límites de detección y de cuantificación son inferiores al valor requerido por la resolución.

#### 6.4.4. Porcentaje de recuperación

Los datos obtenidos se observan en la tabla 11.

**Tabla 11.** Porcentaje de recuperación patrón de 0,05 ppm.

Compuesto	% Recuperación Ad-1	% Recuperación Ad-2	Promedio
Cloroformo	101,3808	72,3413	86,9
BDCM	109,4229	89,7515	99,6
DBCM	118,4408	97,1253	107,8
Bromoformo	118,4865	92,3081	105,4

**Ad-1.** Muestra adicionada # 1.

**Ad-2.** Muestra adicionada # 2.

De los datos obtenidos en la Tabla 11, se puede observar que el porcentaje de recuperación de los cuatro compuestos está en un rango de 86% y 107,8%, valores están dentro del rango de aceptación para ensayos cromatográficos, con lo que se afirma que dichos porcentajes de recuperación se encuentran en el rango de eficiencia sugerido por la Environmental Protection Agency de los Estados Unidos según el trabajo realizado por I. Buscema et al [55], por lo cual se puede concluir que el método es confiable.

#### 6.4.5. Atributos del método

Según los resultados obtenidos de los parámetros de estandarización, los atributos del método se pueden observar en la siguiente tabla.

**Tabla 12.** Atributos del método.

Parámetro		Cloroformo	BDCM	DBCM	Bromoformo
Rango de trabajo		(0,005-0,1) mg/L	(0,005-0,1) mg/L	(0,005-0,1) mg/L	(0,005-0,1) mg/L
Límite de detección		0,001241 mg/L	0,001467 mg/L	0,001736 mg/L	0,001476 mg/L
Límite de cuantificación	de	0,004137 mg/L	0,004891 mg/L	0,005786 mg/L	0,004919 mg/L
Repetibilidad (%RSD)		9,2530	10,6448	12,4106	10,2663
Linealidad (coeficiente de correlación)	de	0,9995	0,9924	0,9902	0,9975
Porcentaje recuperación	de	86,9 %	99,6%	107,8%	105,4%

## 6.5. INFLUENCIA DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD EN LA FORMACIÓN DE THM's

**Tabla 13.** Características del análisis univariado.

Variable	Antes de la cloración N=30	Después de la cloración N=30	En la red de distribución N=14
pH	7,56± 0,275	7,30± 0,187	7,30± 0,184
Temperatura (°C)	18,10± 0,710	18,10± 0,710	18,70± 0,809
Turbiedad (UNT)	0,80± 0,403	0,71± 0,172	0,78± 0,179
Color (UPC)	9,30± 5,389	7,17± 1,814	7,82± 1,940
Alcalinidad (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	42,54± 5,278	39,57± 4,926	42,83± 1,616
Acidez (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	2,31± 1,081	-	-
Cloro residual	-	1,23± 0,175	1,12± 0,158
COT(mg/L)	3,29± 1,223	3,16± 0,933	3,39± 1,471
COD(mg/L)	2,92± 0,609	3,48± 1,041	3,65± 0,718
Calcio(mg/L)	15,07± 1,529	14,86± 1,976	14,39± 3,362
Magnesio(mg/L)	8,50± 0,605	8,43± 0,732	8,06± 1,296
Cobre(μg/L)	1,79± 5,308	1,40± 5,215	0,74± 3,628
Cloroformo(mg/L)	0,0013± 0,0016	0,0463± 0,0418	0,0507± 0,041
Bromodiclorometano(mg/L)	0,0014± 0,0002	0,0022± 0,0014	0,0018± 0,0008
Dibromoclorometano(mg/L)	0,0017± 0,0003	0,0016± 0,0005	0,0016± 0,0003
Bromoformo(mg/L)	0,0015± 0,0000	0,0014± 0,0003	0,0014± 0,0004

Los valores obtenidos de las muestras de agua analizadas que se muestran en la tabla 13, cumplen con lo establecido por la resolución 2115 de 2007 ya que no

superan los límites estipulados en dicha resolución, por lo cual se puede afirmar que el agua analizada es un agua de buena calidad, es decir, es apta para el consumo.

#### **6.5.1.1. Coeficiente de correlación de Pearson**

##### **6.5.1.1.1. Antes de la Cloración**

No se encontró correlación entre los parámetros analizados y la influencia en la formación de cloroformo, bromodiclorometano y dibromoclorometano antes de la cloración (ver anexo 7).

Los resultados obtenidos en este punto son coherentes debido a que los trihalometanos se forman producto de la reacción entre la materia orgánica natural presente en el agua y el agente desinfectante y en dicho punto el agua aún no ha sido sometida a un proceso de desinfección por lo cual no se encuentran presentes los trihalometanos.

##### **6.5.1.1.2. Análisis después de la cloración**

Se encontró correlación entre el carbono orgánico total (COT y la influencia en la formación de cloroformo, bromodiclorometano y dibromoclorometano después de la cloración, el cual presentó un valor de significancia de 0,053 y una correlación de Pearson de 0,356, un valor de significancia de 0,013 y una correlación de Pearson de 0,447 la cual es una influencia medianamente fuerte para cloroformo y bromodiclorometano respectivamente (ver anexo 8).

Resultado que está de acuerdo con lo encontrado por Pauzi et al [56] donde se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson y se obtuvo una correlación entre el COT la formación de THM's.

Para el pH no se encontró correlación con respecto a la formación de cloroformo, bromodiclorometano y dibromoclorometano después de la cloración, el pH no presentó grandes variaciones, es decir, se mantuvo muy constante; resultado que es lógico con lo estudiado por Pauzi et al [56] ya que se afirma que en general la rata de formación de producción de trihalometanos es mayor con el aumento del pH y puesto que éste se mantuvo muy constante para el agua de la ciudad de Pereira, la influencia del pH no fue muy significativa para este caso.

Para la temperatura no se encontró correlación con respecto a la formación de cloroformo, bromodiclorometano y dibromoclorometano después de la cloración, resultado que está de acuerdo con lo encontrado por Pauzi et al [56] donde se afirma que no existe correlación entre la temperatura y la formación de trihalometanos.

Para la turbiedad no se encontró correlación con respecto a la formación de cloroformo, bromodiclorometano y dibromoclorometano después de la cloración, resultado que está de acuerdo con lo encontrado por Pauzi et al [56] donde se

afirma que no existe correlación entre la turbiedad y la formación de trihalometanos.

Para el cloro residual no se encontró correlación con respecto a la formación de cloroformo, bromodiclorometano y dibromoclorometano después de la cloración, resultado que está de acuerdo con lo encontrado por Pauzi et al [56] donde se afirma que en una de las poblaciones de estudio no se encontró correlación entre el cloro residual y la formación de trihalometanos debido a la calidad de la fuente de agua.

Para calcio y magnesio no se encontró correlación con respecto a la formación de cloroformo, bromodiclorometano y dibromoclorometano después de la cloración, los valores para calcio y magnesio se mantuvieron muy constantes y fueron muy bajos por lo cual su influencia en dicha formación es despreciable; resultado que es lógico con lo estudiado por Navalon et al [57] ya que se afirma que si las cantidades de calcio y magnesio son bajas, la influencia en la formación de trihalometanos es significativamente muy pequeña.

Para el cobre no se encontró correlación con respecto a la formación de cloroformo, bromodiclorometano y dibromoclorometano después de la cloración, las cantidades de cobre encontradas en este estudio fueron muy pocas y muy bajas; en lo estudiado por Navalon et al [57] se afirma que la formación de trihalometanos es un complejo mecanismo que depende de los precursores presentes en el agua y algunos precursores en los cuales está presente el cobre, produce una menor formación de trihalometanos, lo cual concuerda con los resultados obtenidos en este trabajo.

Para los parámetros color y alcalinidad total no se encontró correlación con respecto a la formación de cloroformo, bromodiclorometano y dibromoclorometano después de la cloración, ya que estos parámetros se mantienen constantes debido a que existe un control riguroso sobre éstos en el proceso de desinfección, cumpliendo con los rangos exigidos en la resolución 2115 de 2007 los cuales son 15 NTU y 200 mg/L correspondientes a color y alcalinidad total respectivamente.

#### **6.5.1.1.3. Análisis en la red de distribución**

No hay correlación entre los parámetros analizados y la influencia en la formación de cloroformo en la red de distribución.

Para el caso del bromodiclorometano, el carbono orgánico total (COT), presentó un valor de significancia de 0,044 y una correlación de Pearson de 0,719 la cual es una influencia fuerte en la formación del subproducto de desinfección (SPD), por tanto existe correlación entre dicho parámetro y la influencia en la formación de bromodiclorometano en la red de distribución, resultado que está de acuerdo con lo encontrado por Pauzi et al [56] donde se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson y se obtuvo una correlación entre el COT la formación de THM's.

Para los demás parámetros se afirma que no existe correlación con la formación de bromodiclorometano.

Por último se observa para el dibromoclorometano que los valores de significancia son mayores que el valor empleado para dicho análisis a excepción del carbono orgánico total (COT), el cual presentó un valor de significancia de 0,021 y una correlación de Pearson de -0,786 lo que indica existe correlación entre el COT y el dibromoclorometano, con una influencia fuerte pero de magnitud negativa, lo que significa que a mayor cantidad de COT menor cantidad de dibromoclorometano.

Para el caso del compuesto bromoformo no se realizó el análisis del coeficiente de correlación de Pearson dado que para dicho compuesto no se obtuvieron datos puesto que no se encontró la presencia de éste compuesto en las muestras analizadas en ninguno de los niveles estudiados (ver anexo 9).

En la red de distribución los parámetros pH, temperatura, Turbiedad, cloro residual, Ca, Mg, Cu, color y alcalinidad total presentan el mismo comportamiento que en el punto anterior (análisis después de la cloración).

#### **6.5.1.2. Análisis ANOVA**

Para el análisis ANOVA se utiliza el software IBM SPSS Statistic versión 19, con el cual se realizan los siguientes análisis.

##### **6.5.1.2.1. Prueba de Normalidad de los datos (Shapiro-Wilk)**

Con el valor de significancia empleado el cual es de 0,05 y según los datos obtenidos (ver anexo 10), se puede apreciar que dichos datos se encuentran en la zona de rechazo, con lo cual se rechaza la hipótesis nula, es decir, los datos no son normales.

Se aprecia claramente que los datos empleados no poseen normalidad por lo cual se procede a emplear el análisis ANOVA no paramétrico por el método de KRUSKAL- WALLIS.

#### 6.5.1.2.2. Análisis ANOVA no paramétrico KRUSKAL -WALLIS.

**Tabla 14.** Análisis no paramétrico

Compuestos	Antes de la cloración	Después de la cloración	Red de distribución	p
Cloroformo	0,0013± 0,0016	0,0463± 0,0418	0,0507± 0,041	<0,001
BDCM	0,0014± 0,0002	0,0022± 0,0014	0,0018± 0,0008	0,004
DBCM	0,0017± 0,0003	0,0016± 0,0005	0,0016± 0,0003	0,399
Bromoformo	0,0015± 0,0000	0,0014± 0,0003	0,0014± 0,0004	0,336

Con los resultados obtenidos de la tabla 14, se puede observar claramente que los valores de significancia para los compuestos cloroformo y bromodiclorometano (BDCM) corresponden a la zona de rechazo por lo cual existe una diferencia marcada entre los niveles estudiados los cuales corresponden a antes de la cloración, después de la cloración y en la red de distribución y para los compuestos dibromoclorometano (DBCM) y bromoformo los valores de significancia corresponden a la zona de aceptación, por lo cual no existe una diferencia marcada entre ellos con respecto a los niveles.

##### 6.5.1.2.2.1. Cloroformo

Para determinar las diferencias de cloroformo entre los niveles estudiados se plantean las siguientes hipótesis:

$H_0$ = La cantidad de cloroformo en los niveles antes, después y en la red de distribución es igual.

$H_a$ = La cantidad de cloroformo en los niveles antes, después y en la red de distribución es diferente por lo menos en alguno de ellos.

**Valor de significancia= 0,05**

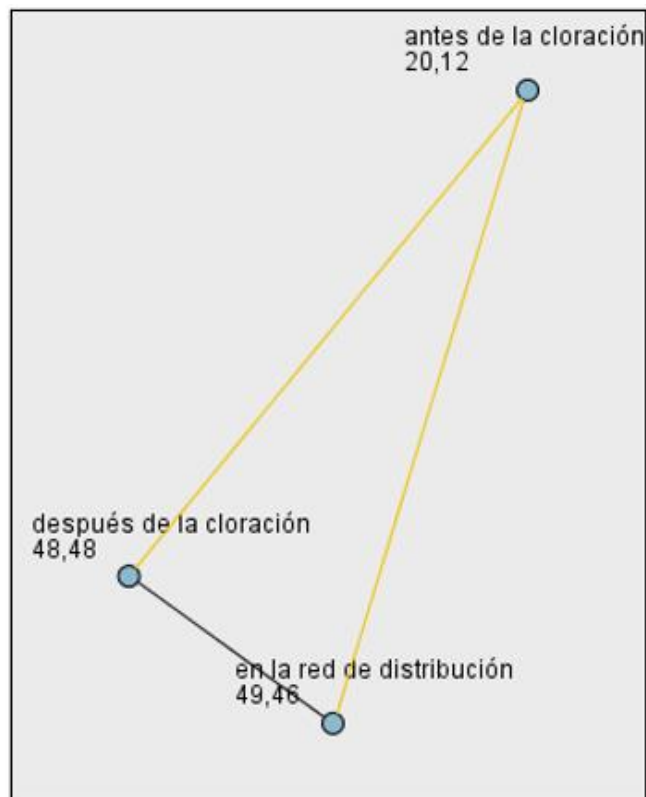


**Tabla 15.** Valores de significancia de cloroformo antes de la cloración-después de la cloración y en la red de distribución.

	<b>Prueba estadística</b>	<b>Error típico</b>	<b>Desv.Prueba estadística</b>	<b>Sig</b>	<b>Sig. Ady.</b>
Antes de la cloración-después de la cloración	-28,367	5,285	-5,368	0,000	0,000
Antes de la cloración-en la red de distribución	-29,345	6,796	-4,318	0,000	0,000
Después de la cloración-en la red de distribución	-0,978	6,796	-0,144	0,886	1,000

Con los resultados obtenidos de la tabla 15 y el valor de significancia empleado para este análisis el cual es de 0,05 se observa que las significancias para las comparaciones antes de la cloración- después de la cloración y antes de la cloración- en la red de distribución, están ubicadas en la zona de rechazo, por tanto se rechaza la hipótesis nula, es decir, la cantidad de cloroformo en los niveles antes de la cloración-después de la cloración y antes de la cloración-en la red de distribución es diferente en alguno de los niveles y para la comparación entre los niveles después de la cloración- en la red de distribución la significancia es de 0,886, por lo que se ubica en la zona de aceptación , aceptando así la hipótesis nula, es decir, la cantidad de cloroformo entre los niveles después de la cloración-en la red de distribución es igual.

Lo anteriormente descrito se puede observar en la figura 25.



**Figura 25.** Comparación de cloroformo

Las diferencias marcadas de la cantidad de cloroformo entre los niveles estudiados se ve representada por las líneas de color amarillo y la línea de color negro indica que no existe diferencia en la cantidad de cloroformo entre los niveles.

#### 6.5.1.2.2.2. Bromodiclorometano (BDCM)

Para determinar las diferencias de BDCM entre los niveles estudiados se plantea las siguientes hipótesis:

$H_0$ = La cantidad de BDCM en los niveles antes, después y en la red de distribución es igual.

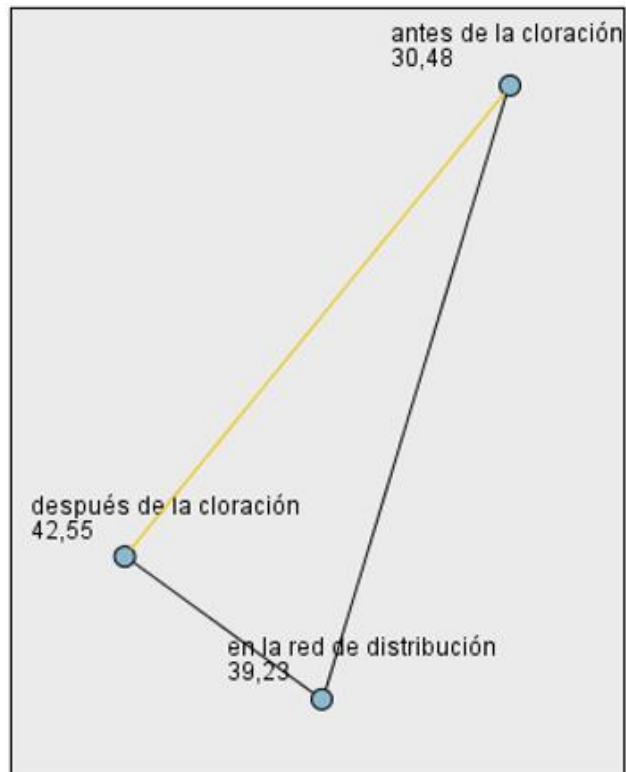
$H_a$ = La cantidad de BDCM en los niveles antes, después y en la red de distribución es diferente en alguno de ellos.

**Tabla 16.** Valores de significancia de BDCM en los niveles antes de la cloración-después de la cloración y en la red de distribución.

	Prueba estadística	Error típico	Desv.Prueba estadística	Sig	Sig. Ady.
Antes de la cloración-después de la cloración	-8,747	4,698	-1,862	0,063	0,188
Antes de la cloración-en la red de distribución	-12,067	3,654	-3,303	-3,303	0,003
Después de la cloración-en la red de distribución	3,319	4,698	0,706	0,706	1,000

Con los resultados obtenidos de la tabla 16 y el valor de significancia empleado para este análisis el cual es de 0,05 se observa que la significancia para las comparaciones antes de la cloración- después de la cloración, está en el límite entre la aceptación y la zona de rechazo, pero se rechaza la hipótesis nula dado que en la figura 26 se observa una diferencia entre estos niveles la cual está representada por la línea de color amarillo y por tanto se puede decir que la cantidad de BDCM en los niveles antes de la cloración-después de la cloración es diferente y para los niveles antes de la cloración- en la red de distribución y después de la cloración- en la red de distribución, dada su significancia se acepta la hipótesis nula, por lo cual se afirma que no existe diferencia en la cantidad de BDCM entre los niveles estudiados.

Lo anteriormente descrito se puede observar en la figura 26.



**Figura 26.** Comparación de BDCM

Las diferencias marcadas de la cantidad de BDCM entre los niveles estudiados se ve representada por las líneas de color amarillo y la línea de color negro indica que no existe diferencia en la cantidad de BDCM entre los niveles.

## 7. CONCLUSIONES

1. Con respecto a la estandarización de la técnica de SPME se encontró que los parámetros óptimos son 20 minutos en el tiempo de extracción, una concentración de 25% de NaCl en las muestras, 250°C de temperatura de desorción, 2 mL de volumen de muestras y una agitación de las mismas de 200 rpm garantizar una mayor extracción de los analitos.
2. En este trabajo se evaluaron muestras que poseen una concentración baja de los componentes presentes en ellas, usualmente se encuentra que el modo utilizado para el análisis de muestras de este tipo es Splitless, con lo que se obtuvieron resultados con poca resolución dado que se presentaron efectos de colas en los picos cromatográficos, por lo cual se cambió el modo de inyección a Split con una relación 25:1 para asegurar el ingreso de una menor cantidad de muestra detectable por el método y de este modo evitar que se sature la columna con lo cual se obtuvo una buena respuesta del método y se eliminaron los efectos de colas y se mejoró notablemente la resolución de los picos cromatográficos, demostrando así que éste modo de inyección también es eficiente para este tipo de muestras.
3. El método estandarizado para la determinación de trihalometanos es aplicable lo cual se demostró debido a que los atributos del método operan en intervalos los cuales son límite de detección desde 0,0012- 0,0017, límite de cuantificación desde 0,0041- 0,0057, %RSD desde 9,25-12,41 y un coeficiente de correlación desde 0,9902- 0,9995, los cuales son valores que otorgan confiabilidad al método.
4. De los resultados obtenidos en el estudio de la determinación de trihalometanos, se encontró que el cloroformo es el subproducto que presentó una mayor concentración en las muestras analizadas, por lo cual se afirma que éste es el compuesto más representativo del grupo de compuestos estudiados conocidos como trihalometanos totales.
5. En el estudio de la correlación de los parámetros pH, temperatura, turbiedad, color, alcalinidad total, acidez antes de la cloración, cloro residual, carbono orgánico total (COT), carbono orgánico disuelto (COD), Calcio, Magnesio y Cobre con respecto a la formación de los subproductos de desinfección (SPD) se demostró que solamente existe correlación entre el COT y la formación de dichos subproductos de desinfección, resultado que es lógico debido a que la formación de estos SPD está directamente relacionada con la carga orgánica presente en el agua.

6. Con el análisis ANOVA no paramétrico realizado por el método de Kruskal-Wallis, se encontró que existen diferencias de la cantidad de los SPD en los niveles antes de la cloración-después de la cloración, antes de la cloración-en la red de distribución con lo que se demuestra que el proceso de cloración es el causante de las diferencias en las cantidades de dichos SPD.
7. Con los resultados obtenidos del análisis ANOVA se concluye que en este trabajo la distancia no es un factor influyente en la formación de los SPD dado que dichos resultados muestran claramente que no existen diferencias entre la cantidad de estos SPD en los niveles después de la cloración- en la red de distribución, siendo este punto de comparación el que representa una mayor distancia entre los niveles estudiados.

## **8. RECOMENDACIONES**

- 1.** Evaluar fibras específicas para gases volátiles como son las fibras de Carboxen-PDMS y sus respectivos espesores.
- 2.** En el proceso de desinfección del agua, se debe ser riguroso en el control de la carga orgánica presente en el agua, puesto que dicha carga orgánica influye fuertemente en la formación de los subproductos de desinfección.
- 3.** Para el análisis de trihalometanos mediante cromatografía de gases, utilizar viales ámbar para evitar que mediante la interacción de los analitos presentes en la muestras con la luz ultravioleta se pueda presentar la formación de radicales libres y por tanto la descomposición de los analitos.

## 9. BIBLIOGRAFIA

[1]. Santa Marina L, Ayerdi M, Lertxundi A, Basterretxea M, Goñi F, Alvare J, Arranz L, Blarduni E, Ibarluzea J. Concentración de trihalometanos y de ácidos haloacéticos en el agua de consumo y estimación de su ingesta durante el embarazo en la cohorte. *INMA-Guipúzcoa*. 2010;4,321-328.

[2]. Lewis C, Suffet IH, Ritz B. Estimated effects of disinfection by-products on birth weight in a population served by a single water utility. *Am. J. Epidemiol.* 2006;163,38-47.

[3]. Arbuckle TE, Hrudey SE, Krasner SW, Nuckols JR, Richardson SD, Singer P, Mendola P, Dodds L, Weisel C, Ashley DL, Froese KL, Pegram RA, Schultz IR, Reif J, Bachand AM, Benoit FM, Lynberg M, Poole C, Waller K. Assessing exposure in epidemiologic studies to disinfection by-products in drinking water: report from an international workshop. *Environ Health Perspect.* 2002 ;110 ,53-60.

[4]. Nieuwenhuijsen MJ, Toledano MB, Bennett J, Best N, Hambly P, de Hoogh C, Wellesley D, Boyd PA, Abramsky L, Dattani N, Fawell J, Briggs D, Jarup L, Elliott P. Chlorination disinfection by-products and risk of congenital anomalies in England and Wales. *Environ Health Perspect.* 2008;216-22.

[5]. Legay C, Rodriguez MJ, Sérodes JB, Levallois P. Estimation of chlorination by-products presence in drinking water in epidemiological studies on adverse reproductive outcomes: a review. *Sci Total Environ.* 2010;456-72.

[6]. Richardson SD, Plewa MJ, Wagner ED, Schoeny R, Demarini DM. Occurrence, genotoxicity, and carcinogenicity of regulated and emerging disinfection by-products in drinking water: a review and roadmap for research. *Mutat Res.* 2007; 636,178-242.

[7]. Sánchez Zafra A. Efectos de los trihalometanos sobre la salud. *Hig. Sanid. Ambient.* 2008; 8, 280-90.



**[8].** Font-Ribera L, Kogevinas M, Nieuwenhuijsen MJ, Grimalt JO, Villanueva CM. Patterns of water use and exposure to trihalomethanes among children in Spain. *Environ Res.* 2010; 8,280-290.

**[9].** World Health Organization. Guidelines for drinking-water quality, 4th ed; World Health Organization, Geneva, Switzerland, 2008.

**[10].** U.S.EPA, National primary drinking water regulations: disinfectants and disinfection by-products; Fed.Reg. 1998; 62 (212) 59388 (notice of data availability; Proposed rule).

**[11].** U.S.EPA (US Environmental Protection Agency). National primary drinking water regulations: stage 2 disinfectants and disinfection by products rule: final rule. Fed. Reg. 2006; 71.

**[12].** República de Colombia, Ministerio de la Protección Social, Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. Resolución 2115 de 2007. Diario oficial No 46.679 de 4 de Julio de 2007.

**[13].** Estándares europeos de la calidad del agua potable. Directiva 98/83/EC sobre la calidad del agua destinada al consumo humano. Adoptada por el Consejo el 3 de Noviembre de 1998. EN: <http://www.lenntech.es/aplicaciones/potable/normas/estandares-europeos-calidad-agua-potable.htm#ixzz0tQoqz0dF> fecha: 18.03.2011. Hora: 10:12.

**[14].** Rodríguez MJ, Rodríguez G, Serodes J, Sadiq R. Subproductos de la desinfección del agua potable: formación, aspectos sanitarios y reglamentación. *Interciencia.* 2007; 32, 749-756.

**[15].** Solsona F, Méndez JP. Desinfección del Agua. Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente, División de Salud y Ambiente, Organización Panamericana de la Salud, Oficina Sanitaria Panamericana, Oficina Regional de la Organización mundial de la salud. 2002; 29,34-36.

**[16].** Garrido Hoyos SE. Consideraciones sobre los subproductos de la desinfección. Programa iberoamericano de Cooperación Científico- tecnológica multilateral, Ciencia y tecnología para el desarrollo (CYTED).

**[17].** Pawliszyn J, Pawliszyn B, Pawliszyn M. Solid Phase Microextraction (SPME), *The Chemical Educador*. 1997; 4.

**[18].** Pawliszyn J. Theory of Solid-Phase Microextraction, *Journal of Chromatographic*. 2000; 38, 270- 278.

**[19].** Skoog DA, Holler FJ, Crouch SR. Introducción a las separaciones cromatográficas. En: Principios de Análisis Instrumental. 6 ed. México: Edamsa impresiones, 2008.p. 762-788.

**[20].** CASTRO E, F.2011. Técnicas cromatográficas – Apuntes de clase. En: Análisis Instrumental II. Universidad Tecnológica de Pereira.

**[21].** Olguín Pérez LP, Rodríguez Magadán HM. Instituto de Biotecnología, Metodos en Biotecnología, Cromatografía de Gases. Universidad Nacional Autónoma de México. 2004 jun.

**[22].** Center for Disease Control and Prevention (CDC). The safe Water System, Disinfection By- Products. En: <http://www.cdc.gov/safewater/chlorination-byproducts.html>. fecha: 12.10.2013. Hora: 15:20.

**[23].** Lee MR, Song YS, Hwang BH, Chou CC. Determination of amphetamine and methamphetamine in serum via headspace derivatization solid-phase microextracion- gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 896. 2000; 265.

**[24].** T. Kraemer, H. H. Maurer. Determination of amphetamine, methamphetamine and amphetamine-derived designer drug or medicaments in blood and urine. *Journal of Chromatography B* 713. 1998; 163.

**[25].** R.D. 2000/60/CE modificado por la Decisión 2455/2001/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 20 de Noviembre 2001, DOCE nº L 331 (2001).

**[26].** Directiva 76/464/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 18 de Mayo de 1976, DO nº L 129 (1976) R.D. 995/2000.

**[27].** F. J. Santos, M. T. Galceran. The application of gas chromatography to environmental analysis. *Trends in Analytical Chemistry*. 2002; 21.

**[28].** Kubinec R, Adamuscin J, Jurdáková J, Foltin M, Ostrovský I, Kraus A, Soják L. Gas chromatographic determination of benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes using flame ionization detector in water sample with direct aqueous injection up to 250 µl. *Journal of Chromatography A* 1084. 2005;90.

**[29].** Flórez JC, Fernández ML, Sánchez JE, Fernández E, Sanz-Mendel A. Static headspace, solid-phase microextraction and headspace solid-phase microextraction for BTEX determination in aqueous samples by gas chromatography. *Analytica Chimica*. 2000; 9.

**[30].** Barquero Quirós M. Principios y Aplicaciones de la Cromatografía de Gases. 1ed. san jose, C.R: Editorial UCR, 2006.

**[31].** Valcárcel Cases. M, Gómez Hens. A. Cromatografía de gases, Técnicas analíticas de separación. Impreso en España: Editorial Reverté, s.a, 1988.

**[32].** Golfinopoulos SK, Lekkas TD, Nikolaou AD. Comparison of methods for determination of volatile organic compounds in drinking water. *Chemosphere*.

**[33].** Estandarización. EN: <http://www.definicionabc.com/general/estandarizacion.php#ixzz2iUYABDU>. Fecha: 22.10.2013. Hora: 17:20.

**[34].** Sierra Alonso I, Pérez Quintanilla D, Gómez Ruiz S, Morante Zarcero S. Algunas herramientas de enseñanza-aprendizaje adaptadas al espacio europeo

de educación superior. En: Análisis instrumental. 1ed. España. NETBIBLO, S.L. 2010. p. 5.

**[35].** Carbono orgánico total EN:<http://www.prtr-es.es/Carbono-organico-total-COTComo-C,15663,11,2007.html>. Fecha: 29.10.2013. Hora: 19:59.

**[36].** Baird Colin. Química de oxidación-reducción en aguas naturales En: Química ambiental 1ed.España.REVERTÉ 2004.

**[37].** Campos Gómez I. Parámetros de calidad del agua. En: Saneamiento ambiental 1 ed. Costa Rica. Universidad Estatal a distancia.

**[38].** Pancorbo J. F. El pH del agua. En: Corrosión, degradación y envejecimiento de los materiales empleados en la edificación 1 ed. España. MARCOMBO 2011.

**[39].** Arredondo Figueroa J.L, De la lanza Espino G. Algunos conceptos sobre hidrología y calidad del agua. En: La acuicultura en México de los conceptos a la producción 1 ed. México Unam 1990.

**[40].** Instituto tecnológico de santo domingo. Determinación de cloro residual. En: Ingeniería sanitaria, manual de prácticas. República dominicana BUHO 1999.

**[41].** Guerra Millán F.J, Struck Garza A, Villalobos Steta S.A. Demanda de cloro y Cloro residual Trabajo Prelaboratorio. Laboratorio de Ingeniería Ambiental, Universidad Iberoamericana. México D.F 2008.

**[42].**Anulación o reorientación Norma Técnica Colombiana NTC 813 (Segunda actualización).

**[43].** Moreano Rosero M, Aguirre M, Pezo D, Taborda G, Dussán C, Nerin C. Solventless Microextraction Techniques for Determination of Trihalomethanes by Gas Chromatography in Drinking Water. *Water Air Soil Pollut* .2012; 223,667- 678.

- [44]. J. Pawliszyn. Theory of solid phase microextraction. *Journal of chromatographic science*. 2000; 38.
- [45]. (M. Bahri, M:R: Driss. Development of solid-phase microextraction for the determination of trihalomethanes in drinking water from Bizerte, Tunisia. *ELSEVIER*. 2010; 250.
- [46]. Aguirre González M, Taborda Ocampo G, Dussan Lubert C, Nerin C, Rosero Moreano M. Optimization of the HS-SPME technique by using response Surface methodology for evaluating chlorine disinfection by-products by GC in drinking water, J, *Braz.Chem.Soc*. 2011; 22.
- [47]. Vas G, Vékey K. Solid phase microextraction: a powerful simple preparation tool prior to mass spectrometric analysis. *J. Mass Spectrom*. 2004; 39.
- [48]. Cho DH, Kong SH, Oh SG. Analysis of trihalomethanes in drinking water using headspace- SPME technique with gas chromatography. *Water research*. 2003; 37 .
- [49]. Koning S, Gern Janssen H, Brinkman Th. Modern methods for simple preparation for GC analysis. *Chromatographia*. 2009;69, 33-78.
- [50]. Morante Zarcero S, Sierra Alonso I, Del Hierro Morales I. Linealidad y Rango. En: Desarrollo de métodos analíticos para la separación quiral y su aplicación al estudio de procesos de síntesis asimétrica. 1 Ed. España. DYKINSON, S.L. 2007 p. 27.
- [51]. Salvador Wakao H. Porcentaje de recuperación En: Estudio de la variación del contenido de alcaloides en cacao (*Theobroma cacao* L) de la producción nacional durante el proceso de beneficio. Ecuador 2002 p.37.
- [52]. Pedroza H, Dicovskyi L.Tablas de contingencia y medidas de asociación En: Sistema de análisis estadístico con SPSS.INTA 2007.

- [53].** Maia R, Correia M, Brás Pereira IM, Beleza VM. Optimization of HS-SPME analytical conditions using factorial desingn for trihalometahanes determination in swimming pool water samples. *Microchemical Journal*. 2014; 112, 164-171.
- [54].** Merib J, Simáo, Neves Dias A Carasek E. Simultaneous determination of trihaomethanes and organochlorine pesticides in wáter samples by direct immersion-headspace-solid phase microextraction. *Journal of Chromatographys A*. 2013; 1321, 30-37.
- [55].** I. Buscema , G. Ettiene, D. Medina y A. Prieto. Método de extracción líquido-sólido para el análisis de residuos de plaguicidas N-Metil carbamatos en aguas. Revista de la facultad de agronomía Universidad del Zulia Maracaibo-Venezuela. 1999; 16,196-205
- [56].** Pauzi Abdullah Md, Yew CH, bin Ramli MS. Formation, modeling and validation of trihalomethanes (THM) in Malaysian drinking water: a case study in the district of Tampin, Negeri Sembilan and Saback Bernam, Selangor, Malaysian. *ELSEVIER*. 2003; 37.
- [57].** Navalon S, Alvaro M, García H.  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Mg}^{2+}$  present in hard waters trihalomethane formation. *ELSEVIER*. 2009;169.

## 10. ANEXOS

### Anexo 1. Resultados de los parámetros analizados antes de la cloración.

	pH	Temperatura	Turbiedad	Color	Alcalinidad Total	Acidez	COT	COD
1	7,75	19	0,7	8	37,52	1,93	4,45	3,75
2	7,21	18,9	1,3	8	29,66	0,42	3,42	2,67
3	7,74	18,3	0,8	10	40,22	2,41	3,34	3,27
4	7,67	18	0,7	10	42,92	2,65	4,01	3,77
5	7,81	18	2,1	20	44,26	3,14	3,84	3,78
6	7,68	18,5	0,7	9	44,04	2,414	3,51	2,75
7	7,79	17,8	0,8	9	43,37	2,65	3,04	2,66
8	7,45	18,8	0,7	6	40,7	2,65	3,09	3,02
9	7,7	17,9	0,7	9	43,59	3,14	2,66	2,65
10	7,15	17,3	0,7	6	37,67	4,58	3,05	1,91
11	7,51	16,5	1,72	20	38,85	1,99	7,96	2,47
12	7,57	17,7	0,8	20	38,68	3,3	3,73	2,17
13	7,54	19,5	0,9	15	36,6	2,87	3,93	2,5
14	7,63	17,9	0,7	14	41,94	4,19	4,96	3,51
15	7,7	18,2	0,8	8	43,97	0,2887	5,31	
16	7,79	18,5	0,8	6	43,77	1,99	2,64	
17	7,82	18	0,9	10	47,03	0,33	2,1	
18	7,77	16,9	0,7	17	47,64	2,43	2,79	
19	7,79	17,1	0,6	8	47,84	2,87	2,58	
20	7,74	17,5	0,7	8	47,43	0,2431	1,97	
21	7,54	18,1	0,2	0	34,25	4,19	3,32	
22	7,74	17,8	0,9	12	45,53	1,99	3,26	
23	7,53	18	0,6	9	50,17	1,99	2,78	
24	7,13	18,1	0,1	0	53,7	1,77	1,91	
25	7,14	17,9	0,3	1	39,78	1,77	2,03	
26	6,8	18,2	0,2	0	32,93	2,21	2	
27	7,64	17,8	1,3	9	45,305	2,21	2,81	
28	6,97	17,9	0,9	7	42,43	2,43	2,23	
29	7,59	19	0,9	10	46,85	1,99	2,93	
30	7,79	19,8	0,8	10	47,52		2,97	

# **Anexo 1. Resultados de los parámetros analizados antes de la cloración.**

Antes de la cloración (continuación).

	Calcio	Magnesio	Cobre	Cloroformo	BDCM	DBCM	Bromoformo
1	14,8999	8,5542	25,6889	0,0001	0,00146739	0,00173577	0,00147559
2	16,2786	8,7328	11,2391	0,0003	0,00146739	0,00173577	0,00147559
3	14,1538	8,0339	0,005	0,0001	0,00146739	0,00173577	0,00147559
4	16,4165	9,1286	10,3195	0,0001	0,00146739	0,00173577	0,00147559
5	16,749	8,7648	0,005	0,0003	0,00146739	0,00173577	0,00147559
6	15,9872	9,0518	0,005	0,0013	0,00146739	0,00173577	0,00147559
7	16,3765	9,4122	0,005	0,0007	0,00146739	0,00173577	0,00147559
8	12,5426	7,4202	0,005	0,0011	0,0001	0,0001	0,00147559
9	16,8012	9,2846	0,005	0,0094	0,00146739	0,00173577	0,00147559
10	16,0426	9,1426	0,005	0,0012409	0,00146739	0,00173577	0,00147559
11	12,4416	8,0186	0,005	0,0012409	0,00146739	0,00173577	0,00147559
12	13,7119	8,5806	0,005	0,0012409	0,00146739	0,00173577	0,00147559
13	12,3648	7,9657	0,0295	0,0012409	0,00146739	0,00173577	0,00147559
14	13,3687	8,8366	0,005	0,0012409	0,00146739	0,00173577	0,00147559
15	15,2402	8,1658	0,005	0,0012409	0,00146739	0,00173577	0,00147559
16	16,4882	8,6865	0,005	0,0012409	0,00146739	0,00173577	0,00147559
17	14,2811	7,745	0,005	0,0012409	0,00146739	0,00173577	0,00147559
18	14,4717	7,8186	0,005	0,0012409	0,00146739	0,00173577	0,00147559
19	15,5353	8,3452	0,005	0,0012409	0,00146739	0,00173577	0,00147559
20	17,3427	9,3044	0,005	0,0012409	0,00146739	0,00173577	0,00147559
21	16,9124	8,9955	0,005	0,0012409	0,00146739	0,00173577	0,00147559
22	14,9143	8,1555	0,005	0,0012409	0,00146739	0,00173577	0,00147559
23	13,0208	7,492	0,005	0,0012409	0,00146739	0,00173577	0,00147559
24	12,5351	7,3787	0,005	0,0012409	0,00146739	0,00173577	0,00147559
25	16,2946	8,8839	2,4378	0,0012409	0,00146739	0,00173577	0,00147559
26	13,7034	7,7992	0,005	0,0012409	0,00146739	0,00173577	0,00147559
27	15,3353	8,3138	0,005	0,0012409	0,00146739	0,00173577	0,00147559
28	15,4015	8,783	3,7952	0,0012409	0,00146739	0,00173577	0,00147559
29	16,0961	8,9344	0,005	0,0012409	0,00146739	0,00173577	0,00147559
30	16,471	9,1816	0,005	0,0012409	0,00146739	0,00173577	0,00147559



**Anexo 2.** Resultados de los parámetros analizados después de la cloración.

	pH	Temperatura	Turbiedad	Color	Alcalinidad Total	Cloro Residual	COT	COD
1	7,47	17,9	0,6	6	37,78	1,03	5,3	3,66
2	7,14	18,3	0,4	4	27,92	1,65	3,33	2,83
3	7,3	17,9	0,7	7	37,01	1,05	3,56	3,26
4	7,48	15,1	0,7	7	41,58	1,07	3,94	3,46
5	7,65	16,1	0,7	7	41,73	1,24	4,63	4,52
6	7,48	17,9	0,75	6	42,49	1,34	4,22	3,04
7	7,43	18,5	0,65	5	39,99	1,38	4,27	3,66
8	7,01	19,2	0,4	8	28,48	1,6	3,6	2,69
9	7,46	15,1	0,7	7	39,71	1	2,73	2,56
10	7,37	18,5	0,8	7	43,16	1,32	3,49	2,41
11	6,95	19,1	0,7	9	29,61	1,1	2,99	4,31
12	7,51	18,4	0,9	6	39,65	1,27	2,17	2,03
13	7,2	16,1	0,5	9	35,35	1,24	4,86	4,26
14	7,27	17,1	0,8	7	41,96	1,11	3,65	5,98
15	7,45	17,1	0,8	7	43,94	1,26	4,2	
16	7,16	20,1	0,7	7	37,53	1,24	3,52	
17	7,49	19	0,7	8	37,33	1,22	2,76	
18	7,49	19	0,75	6	38,33	1,31	2,12	
19	7,37	19,1	0,7	8	38,13	1,47	2,99	
20	7,51	16,1	0,8	4	45,16	1,03	2,44	
21	7,25	17,1	0,45	8	45,87	1,09	3,32	
22	7,36	17,1	0,8	9	44,43	1,27	2,17	
23	7,1	17,1	0,85	5	43,95	1,4	3,16	
24	7,08	19,3	0,45	11	37,44	1,04	1,92	
25	7,4	19,4	1,1	5	45,84	1,44	1,97	
26	6,98	18,7	0,5	6	34,27	1,13	1,96	
27	7,05	18,9	0,65	11	37,27	1,12	2,21	
28	7,26	17,1	1	8	43,91	1,13	2,42	
29	7,25	17,1	0,8	10	45,62	1	2,4	
30	7,13		1		41,54		2,61	

**Anexo 2.** Resultados de los parámetros analizados después de la cloración (continuación).

	Calcio	Magnesio	Cobre	Cloroformo	BDCM	DBCM	Bromoformo
1	15,7028	8,519	3,226	0,091	0,0034	0,0014	0,00147559
2	14,9689	8,4903	1,4307	0,0349	0,0016	0,0006	0,00147559
3	13,7808	8,2588	0,005	0,1101	0,0049	0,0002	0,00147559
4	16,8949	8,7416	1,6934	0,0788	0,0037	0,0005	0,0004
5	17,5599	9,2399	3,9266	0,1076	0,0046	0,0024	0,0001
6	16,4473	9,3983	1,9124	0,0757	0,0024	0,0008	0,00147559
7	14,0643	8,4252	0,005	0,0012409	0,0050	0,0024	0,00147559
8	15,4269	8,6997	0,005	0,0877	0,0053	0,0019	0,00147559
9	13,0026	7,5935	1,2994	0,1686	0,0053	0,0013	0,00147559
10	15,8236	9,1985	0,005	0,0012409	0,00146739	0,00173577	0,00147559
11	11,1354	7,5597	0,005	0,0012409	0,00146739	0,00173577	0,00147559
12	12,708	8,4835	0,005	0,0012409	0,00146739	0,00173577	0,00147559
13	12,1957	8,0422	0,005	0,0925	0,00146739	0,00173577	0,00147559
14	13,5122	8,6924	0,005	0,0623	0,00146739	0,00173577	0,00147559
15	15,7996	8,4158	0,005	0,0287	0,00146739	0,00173577	0,00147559
16	17,8284	9,0778	0,005	0,0012409	0,00146739	0,00173577	0,00147559
17	14,7299	7,901	0,005	0,0012409	0,00146739	0,00173577	0,00147559
18	15,2832	8,0937	0,005	0,0864	0,00146739	0,00173577	0,00147559
19	17,435	9,2132	0,005	0,0369	0,00146739	0,00173577	0,00147559
20	16,8817	9,0337	0,005	0,0012409	0,00146739	0,00173577	0,00147559
21	14,7791	8,0569	0,005	0,0249	0,00146739	0,00173577	0,00147559
22	9,7256	5,9753	0,005	0,03	0,00146739	0,00173577	0,00147559
23	13,3958	7,7597	0,005	0,0396	0,00146739	0,00173577	0,00147559
24	12,3261	7,2978	0,005	0,0257	0,00146739	0,00173577	0,00147559
25	17,0113	9,227	0,005	0,0407	0,00146739	0,00173577	0,00147559
26	14,2437	8,112	0,005	0,004	0,00146739	0,00173577	0,00147559
27	15,5669	8,5333	0,005	0,028	0,00146739	0,00173577	0,00147559
28	16,4269	9,1816	28,4913	0,0443	0,00146739	0,00173577	0,00147559
29	15,7764	9,0479	0,005	0,0421	0,00146739	0,00173577	0,00147559
30	15,4676	8,6972	0,005	0,0394	0,00146739	0,00173577	0,00147559

**Anexo 3.** Resultados de los parámetros analizados en la red de distribución.

	pH	Temperatura	Turbiedad	Color	Alcalinidad Total	Cloro Residual	COT	COD
1	7,44	18,1	0,7	7	41,11	0,84	3,49	3,46
2	7,47	19,4	0,7	7	42,4	1,17	4,07	3,49
3	7,4	20,3	0,7	7	45,16	1,29	6,39	3,68
4	6,9	18,9	0,65	9	43,7	1,3	2,63	2,52
5	7,17	18,1	0,8	6	41,77	1,11	1,89	4,68
6	7,55	17,1	0,65	6		1,22	3,98	4,07
7	7,51	18,6	0,7	5		1,15	2,76	
8	7,19	19	0,5	10		1,39	1,94	
9	7,3	19,4	1	11		1,04		
10	7,25	19	1,1	8		0,94		
11	7,24	19	0,9	10		1,03		
12	7,18	18,1	1			1,05		
13		18,1				0,97		

**Anexo 3.** Resultados de los parámetros analizados en la red de distribución (continuación).

	Calcio	Magnesio	Cobre	Cloroformo	BDCM	DBCM	Bromoformo
1	16,0921	9,1517	0,005	0,0819	0,0032	0,0011	0,0001
2	5,8773	4,6326	0,005	0,1002	0,0033	0,0016	0,00147559
3	14,2295	8,1424	0,005	0,1146	0,0033	0,0008	0,00147559
4	16,6656	9,3484	19,8214	0,0005	0,00146739	0,00173577	0,00147559
5	10,6334	7,289	0,005	0,1094	0,00146739	0,00173577	0,00147559
6	12,4057	8,4953	0,005	0,0012409	0,00146739	0,00173577	0,00147559
7	16,2054	8,6203	0,005	0,0536	0,00146739	0,00173577	0,00147559
8	14,1643	7,4729	0,005	0,0012409	0,00146739	0,00173577	0,00147559
9	11,4715	6,7858	0,005	0,0146	0,00146739	0,00173577	0,00147559
10	17,312	9,2683	0,005	0,0261	0,00146739	0,00173577	0,00147559
11	17,4016	8,9593	0,005	0,0527	0,00146739	0,00173577	0,00147559
12	17,9901	8,5374	0,005	0,047	0,00146739	0,00173577	0,00147559
13	16,8048	8,0968	0,005	0,0561	0,00146739	0,00173577	0,00147559
14	14,1665		2,3502				

# Anexo 4. Certificado de análisis de trihalometanos.

Rdo 09/05/13

# RESTEK

110 Benner Circle  
Bellefonte, PA 16823-8812  
Tel: (800)356-1688  
Fax: (814)353-1309

www.Restek.com



## Certificate of Analysis

**FOR LABORATORY USE ONLY-READ MSDS PRIOR TO USE.**

*This Reference Material is intended for Laboratory Use Only as a standard for the qualitative and/or quantitative determination of the analyte(s) listed.*

Catalog No. : 30036 Lot No.: A089855  
Description : 501 Trihalomethane Mix  
501 Trihalomethane 200ug/mL, P&T Methanol, 1mL/ampul  
Container Size : 2 mL Pkg Amt: > 1 mL  
Expiration Date : February 2018 Storage: 0°C or colder

## CERTIFIED VALUES

Elution Order	Compound	Grav. Conc. (weight/volume)	Expanded Uncertainty (95% C.L.; K=2)			
1	chloroform	200.0 ug/mL	+/- 1.4182	ug/mL	Gravimetric	
	CAS # 67-66-3		+/- 2.5438	ug/mL	Unstressed	
	Purity 99%		+/- 2.8387	ug/mL	Stressed	
2	bromodichloromethane	199.8 ug/mL	+/- 1.4169	ug/mL	Gravimetric	
	CAS # 75-27-4		+/- 2.5415	ug/mL	Unstressed	
	Purity 97%		+/- 2.8362	ug/mL	Stressed	
3	dibromochloromethane	199.9 ug/mL	+/- 1.4176	ug/mL	Gravimetric	
	CAS # 124-48-1		+/- 2.5428	ug/mL	Unstressed	
	Purity 98%		+/- 2.8376	ug/mL	Stressed	
4	bromoform	200.0 ug/mL	+/- 1.4182	ug/mL	Gravimetric	
	CAS # 75-25-2		+/- 2.5438	ug/mL	Unstressed	
	Purity 99%		+/- 2.8387	ug/mL	Stressed	

Solvent: P&T Methanol  
CAS # 67-56-1  
Purity 99%

#### Anexo 4. Certificado de análisis de trihalometanos (continuación).

**Column:**  
105m x .53mm x 3.0um  
Rtx-502.2 (cat.#10910)

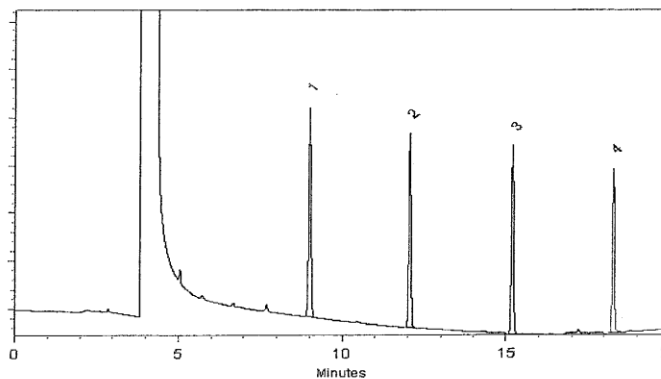
**Carrier Gas:**  
hydrogen-constant pressure 11.0 psi.

**Temp. Program:**  
40°C (hold 2 min.) to 240°C  
@ 8°C/min. (hold 5 min.)

**Inj. Temp:**  
200°C

**Det. Temp:**  
250°C

**Det. Type:**  
FID



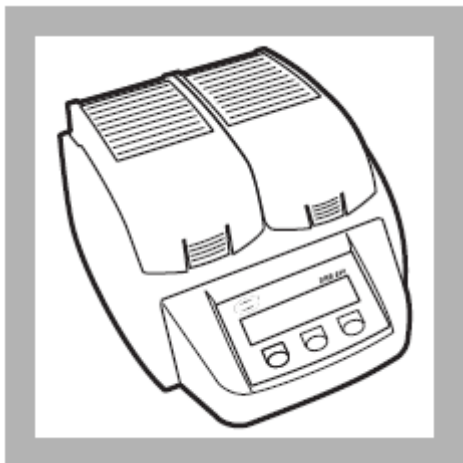
*Jodi E. Breon*  
Jodi E. Breon - QA Analyst

Date Passed: 07-Aug-2012 Balance: 1125113331

Manufactured under Restek's ISO 9001:2008  
Registered Quality System  
Certificate #FM 80397

## **Anexo 5. Análisis de COT**

Se trabajó con un digestor HACH DRB 200 el cual se programó a una temperatura de 105 °C



### **Digestor de COT.**

Tomado de: Method HACH, method 10129

Se procedió de la siguiente forma: Utilizar una probeta para agregar 10 mL de muestra a un Erlenmeyer de 50 mL al cual previamente se le adiciona una barra de agitación



### **Adición de muestra.**

Tomado de: Method HACH, method 10129

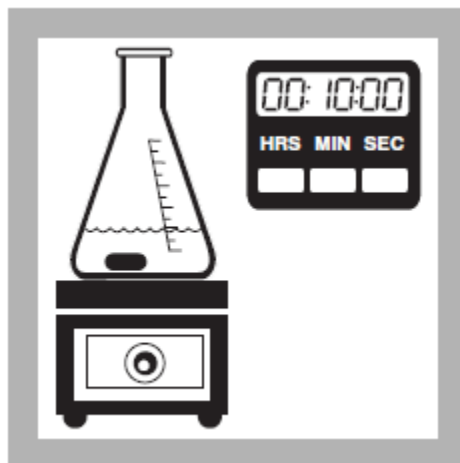
Adicionar 0,4 mL de solución buffer de pH 2,0



**Adición de solución buffer pH 2,0.**

Tomado de: Method HACH, method 10129

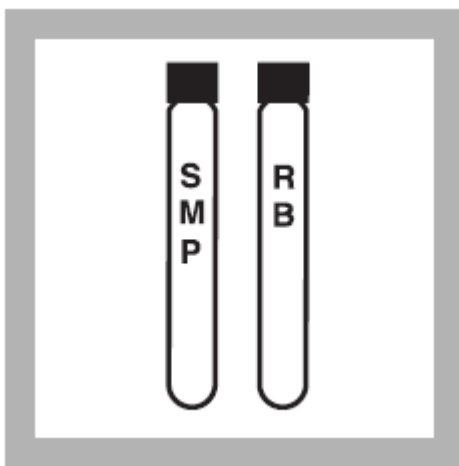
Colocar el Erlenmeyer en un plato de agitación y agitar la muestra con una velocidad moderada por 10 minutos



**Agitación de la muestra.**

Tomado de: Method HACH, method 10129

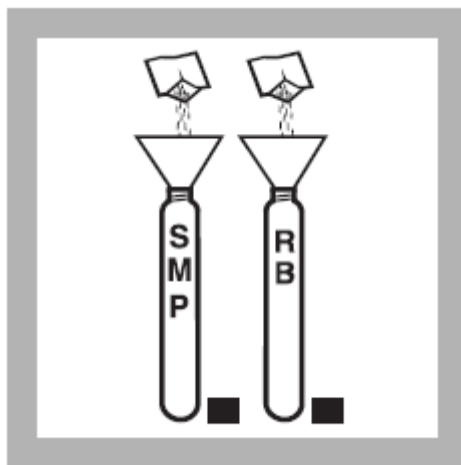
Preparar un blanco para una serie de muestras; las muestras como el blanco se tratan de igual forma



### **Muestra y blanco.**

Tomado de: Method HACH, method 10129

Utilizar un embudo para adicionar a cada vial de digestión un sobre de persulfato

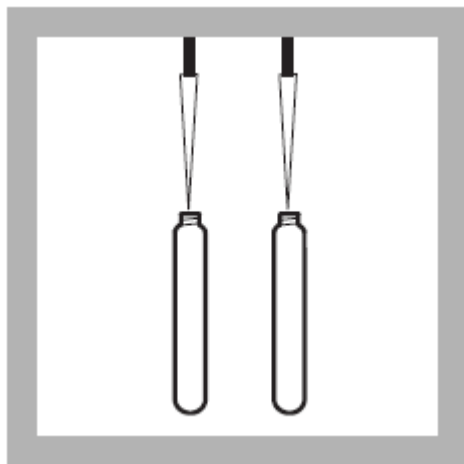


### **Adición de persulfato.**

Tomado de: Method HACH, method 10129

Utilizar una pipeta para adicionar 3 mL de muestra a los viales de digestión y agregar 3 mL de agua destilada como blanco





**Adición de muestra y blanco.**

Tomado de: Method HACH, method 10129

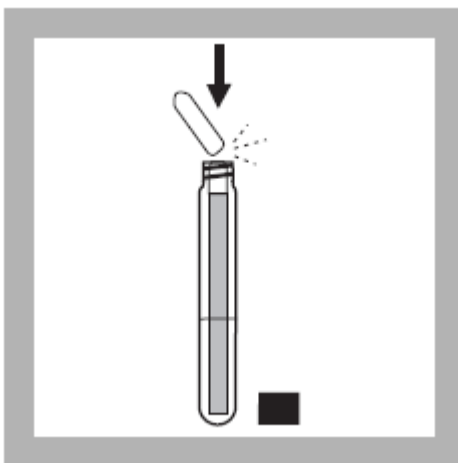
Lavar las ampolletas indicadoras con agua desionizada y proceder a su posterior limpieza con un paño limpio y seco



**Lavado de ampolletas indicadoras.**

Tomado de: Method HACH, method 10129

Fracturar la ampolleta en la parte superior y depositar en el vial de digestión



### **Introducción de la ampolleta en el vial de digestión.**

Tomado de: Method HACH, method 10129

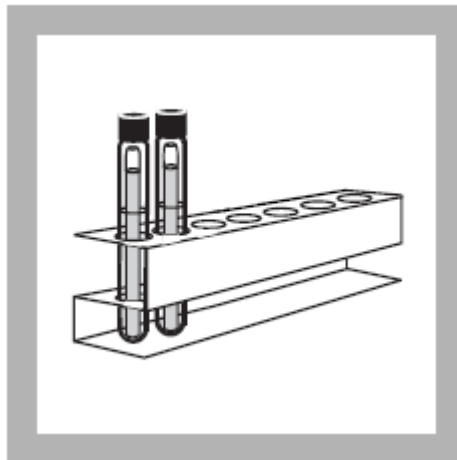
Tapar el vial herméticamente y colocar en el digestor por espacio de dos horas a una temperatura de 105 °C



### **Digestor.**

Tomado de: Method HACH, method 10129

Posterior a la digestión retirar con cuidado los viales y colocarlos en una gradilla y dejarlos enfriar por espacio de una hora



### Viales en gradilla.

Tomado de: Method HACH, method 10129

Luego de realizar la curva de calibración, se determina la siguiente ecuación de la recta:

$$y = 0,06581x - 0,101 \text{ (Ecuación de la recta)}$$

Despejando x:

$$x = \frac{y+0,101}{0,06581} \text{ (Cálculo de concentración)}$$

$$y = Abs\ 430nm - Abs\ 598\ nm \text{ (Absorbancia corregida)}$$

Donde:

x= Concentración de carbono orgánico total (COT) en ppm.

y= Absorbancia corregida.

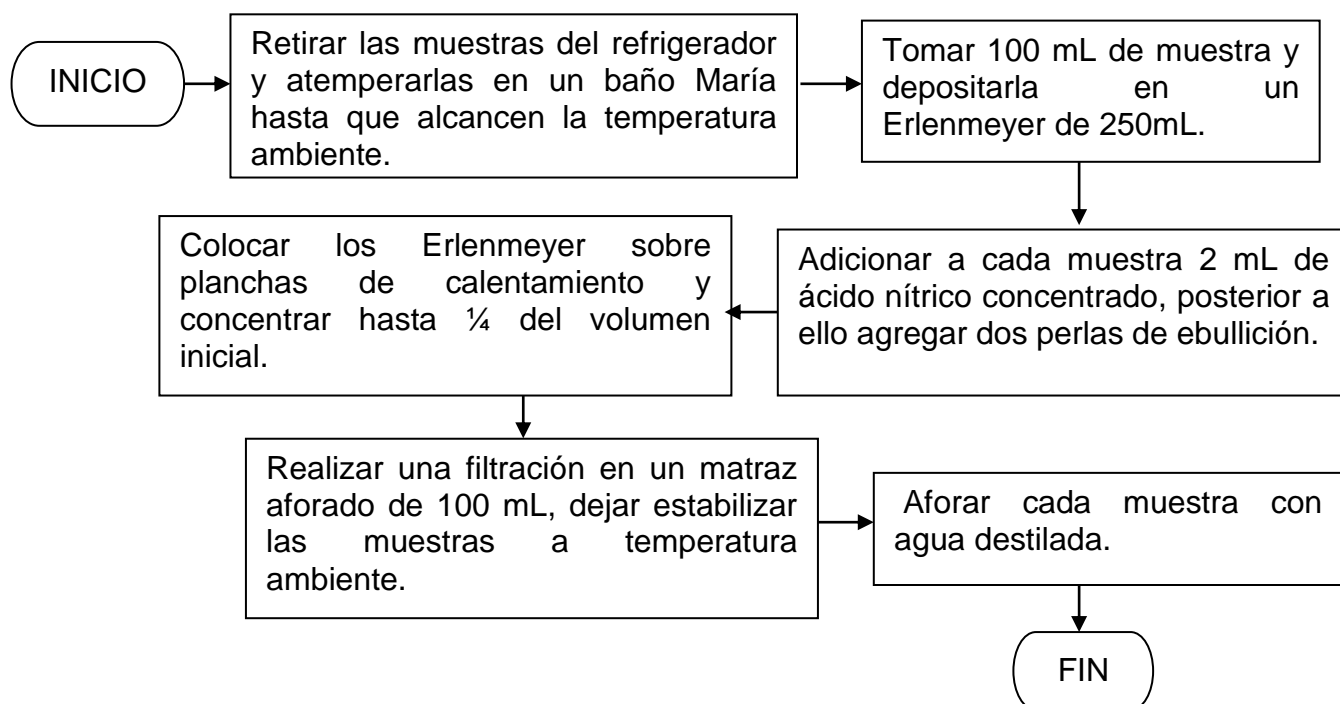
Para determinar la concentración de carbono orgánico total (COT) en las muestras éstas se leen a 430 y 598 nm respectivamente para determinar la absorbancia corregida y esta absorbancia se reemplaza en la ecuación correspondiente para el cálculo de la concentración.

Nota: Para realizar el análisis de carbono orgánico disuelto (COD) se procedió de igual forma que el COT, con la excepción de que antes de agregar los 10 mL de muestra al erlenmeyer para depositarlo al plato de agitación se efectuaba una filtración utilizando un embudo gooch y una membrana de filtros de microfibras de vidrio 943-AH™ de 110 mm de diámetro.

## Anexo 6. Análisis de Metales.

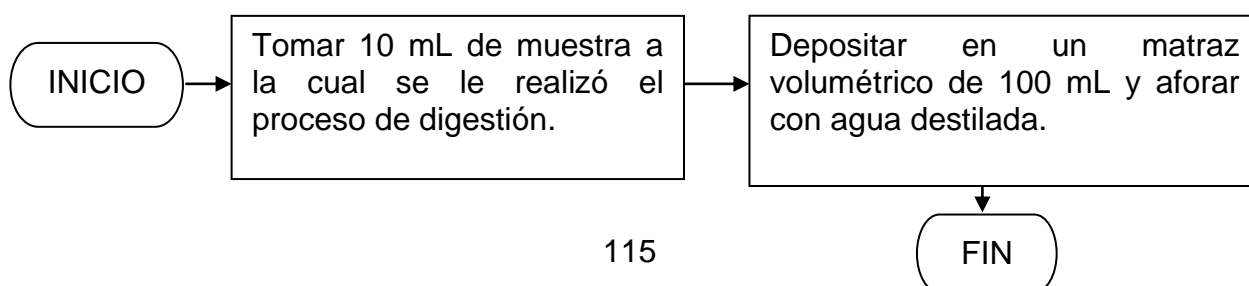
Para preservar las muestras se le adiciona 1 mL de ácido nítrico concentrado.

### Digestión de las muestras:



El procedimiento de digestión descrito anteriormente se utiliza para la determinación de los metales Ca, Mg y Cu.

Para realizar los análisis de calcio y magnesio se realiza una dilución de diez veces, como se muestra a continuación:



## Determinación de calcio

### Método de Calcio

Atributos del método de determinación de calcio.

Atributos del método	
Rango de trabajo	(0,8 – 4,0) mg/L
Límite de detección	< 0,15 mg/L
Límite de cuantificación	< 0,60 mg/L
Precisión(%CV)	9,43%
Exactitud	8,86%
Incertidumbre	± 0,085 mg/L
Estándar carta de control	1,2 mg/L de Ca

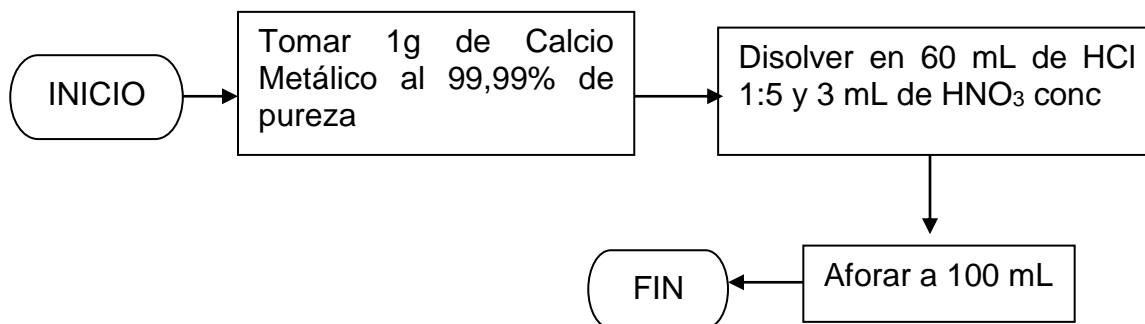
Para realizar el análisis de calcio, se utilizó el procedimiento descrito a continuación:

### Procedimiento

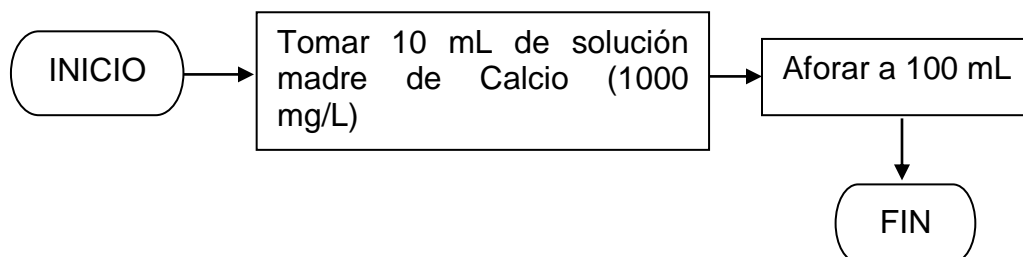
Para llevar a cabo la determinación de calcio se preparó una curva de calibración como se describe a continuación:

### Preparación solución curva de calibración

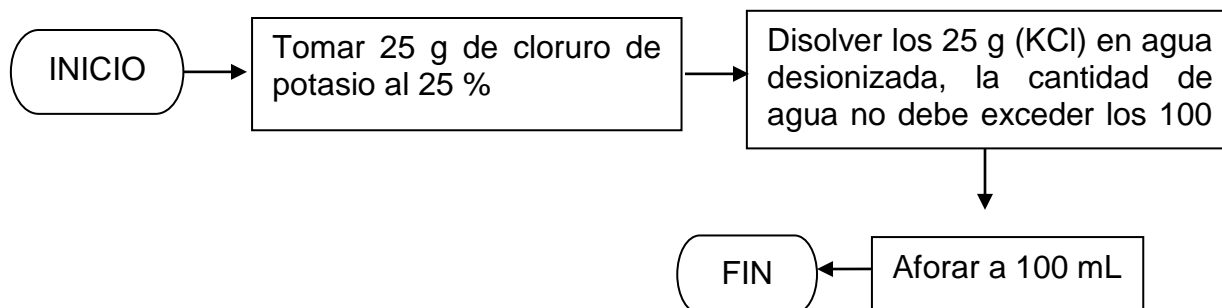
#### Solución madre de Calcio (1000 mg/L)



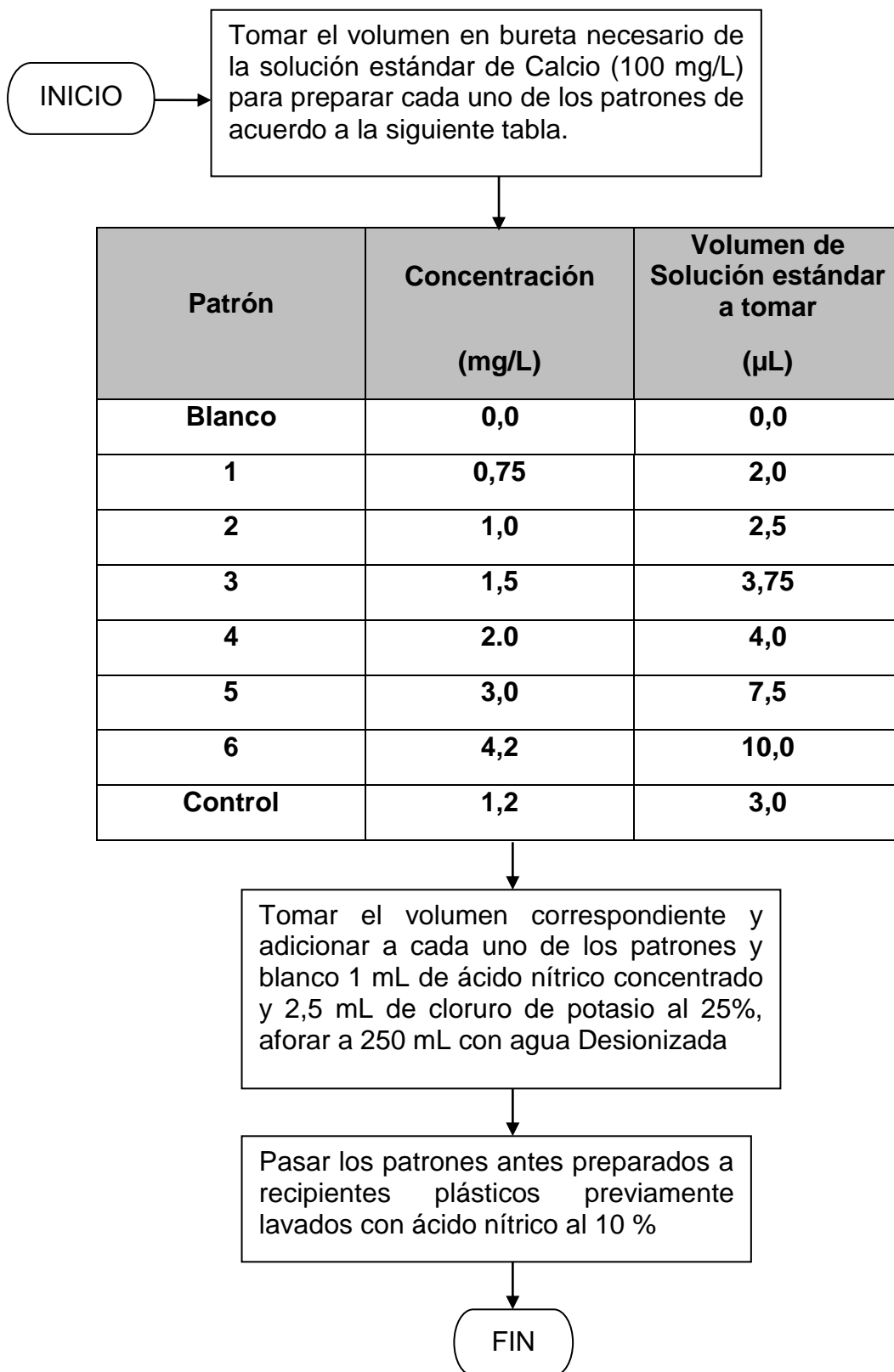
### Solución estándar de Calcio (100 mg/L)



### Preparación de la solución de cloruro de potasio (KCl) al 25%



### Patrones curva de calibración Calcio



### Tratamiento para recolección de muestras

La recolección y preservación de las muestras se realizó como se describe a continuación:

Lavar los recipientes para la recolección de muestras antes de usarlos con jabón y enjuagarlos muy bien para quitar impurezas, luego enjuagarlos con agua desionizada.

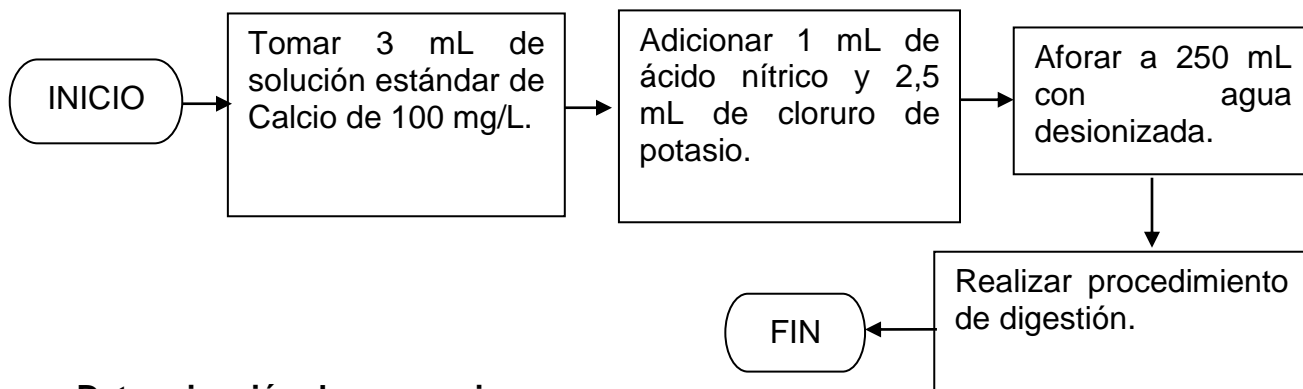
Limpiar los recipientes para la recolección de muestras con suficiente ácido nítrico al 10% para eliminar rastros de analitos que puedan interferir con la determinación y enjuagar con agua desionizada.

### Preservación de la muestras

A las muestras recolectadas se les debe adicionar ácido nítrico al 65% con el fin de que este las ayude a conservar, y deben guardarse las muestras refrigeradas para ayudar con su conservación, pero se debe tener en cuenta que las muestras deben ser analizadas antes de seis meses para mejores resultados. Para la preservación de las muestras de agua se debe adicionar 1 mL de ácido nítrico por cada 100 mL de muestra.

### Carta de control

En cada lectura de calcio a cualquier muestra se registra el valor reportado por el estándar de 1,2 mg/L de calcio.



### Determinación de magnesio



## Método de magnesio

Atributos del método de determinación de magnesio.

Atributos del método	
Rango de trabajo	(0,05-0,6) mg/L
Límite de detección	< 0,008 mg/L
Límite de cuantificación	< 0,26mg/L
Precisión(%CV)	6,64%
Exactitud	2,97%
Incertidumbre	± 0,011 mg/L
Estándar carta de control	0,25 mg/L

Para la determinación de magnesio se trabajó con un espectrofotómetro de absorción atómica SHIMADZU AA-700 y se operó en modo de absorción, ya que proporciona una mejor linealidad para dicho elemento.

### Tratamiento para recolección de muestras

La recolección y preservación de las muestras se realizó como se describe a continuación:

Lavar los recipientes para la recolección de muestras antes de usarlos con jabón y enjuagarlos muy bien para quitar impurezas, luego enjuagarlos con agua desionizada.

Limpiar los recipientes para la recolección de muestras con suficiente ácido nítrico al 10% para eliminar rastros de analitos que puedan interferir con la determinación y enjuagar con agua desionizada.

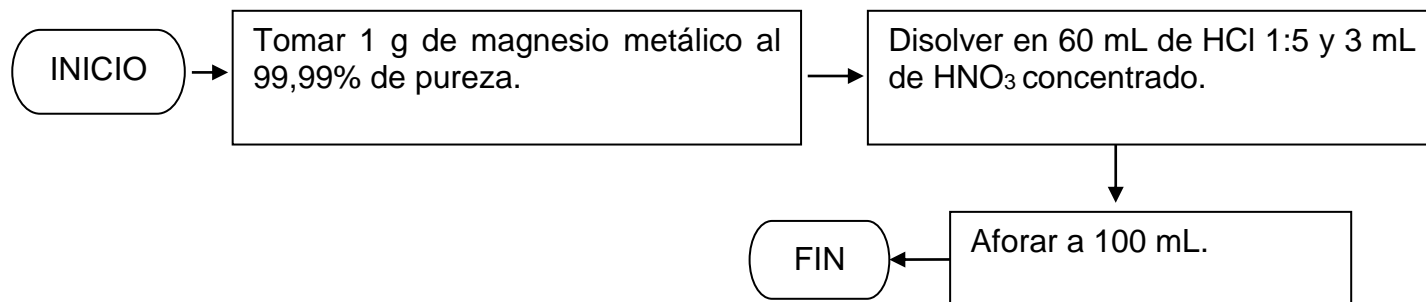
### Preservación de la muestras

A las muestras recolectadas se les debe adicionar ácido nítrico al 65% con el fin de que este las ayude a conservar, y deben guardarse las muestras refrigeradas para ayudar con su conservación, pero se debe tener en cuenta que las muestras deben ser analizadas antes de seis meses para mejores resultados. Para la preservación de las muestras de agua se debe adicionar 1 mL de ácido nítrico por cada 100 mL de muestra.

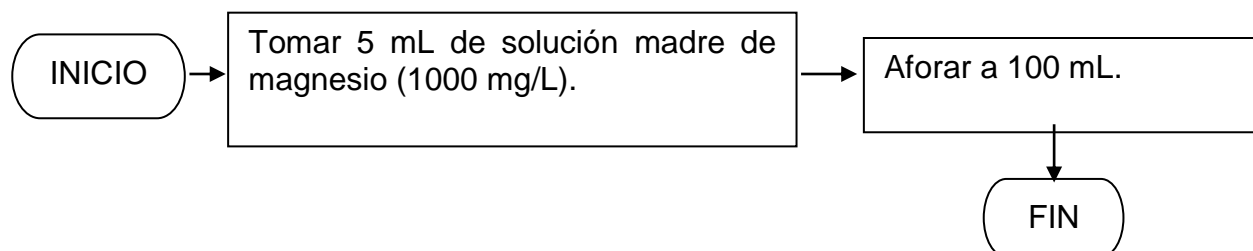
### Procedimiento

Para llevar a cabo la determinación de magnesio se preparó una curva de calibración como se describe a continuación.

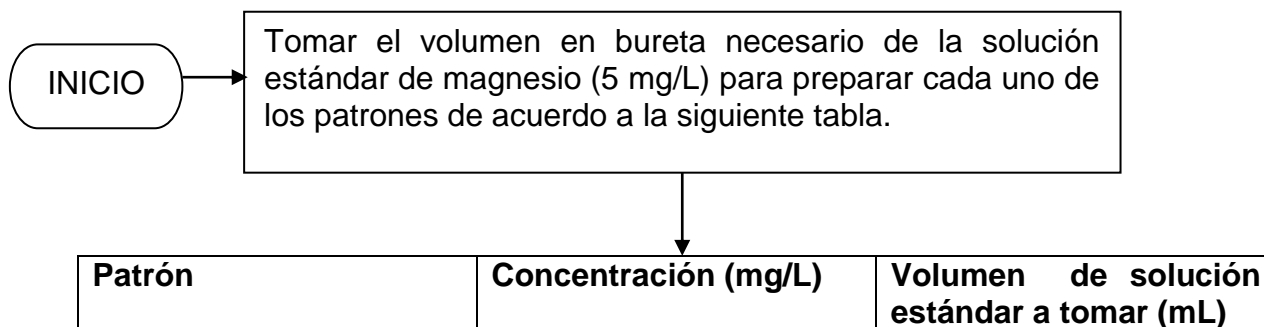
#### Preparación de solución madre de magnesio (1000 mg/L)



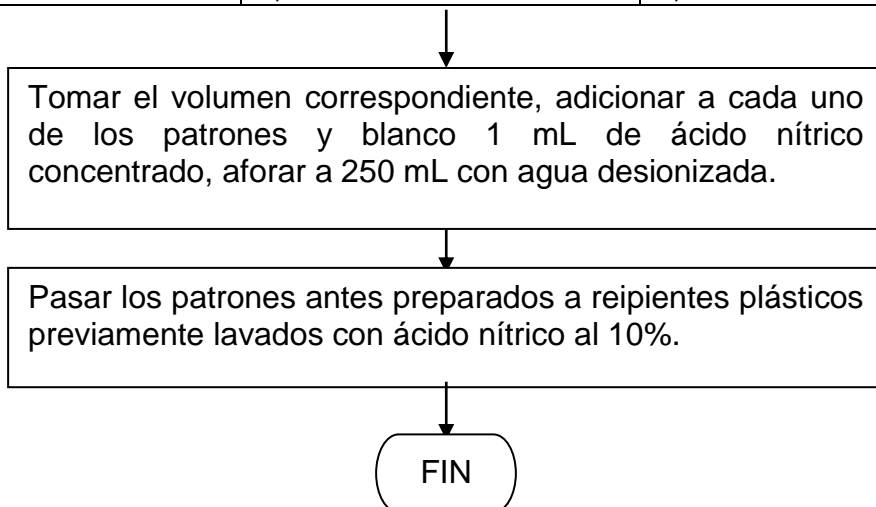
#### Preparación estándar de magnesio (5 mg/L)



#### Preparación de patrones curva de calibración

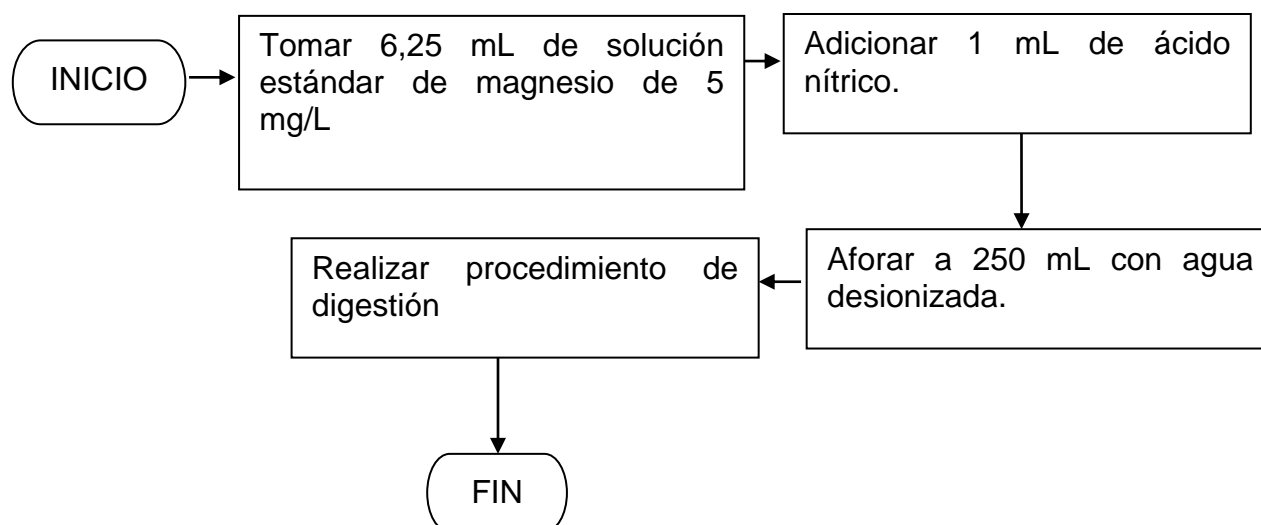


Blanco	0,0	0,0
1	0,05	1,25
2	0,1	2,5
3	0,2	5,0
4	0,3	7,5
5	0,4	10,0
6	0,6	15
Control	0,25	6,25



### Carta de control

### Solución estándar de magnesio (0,25 mg/L)



La determinación de calcio y magnesio se realizó en el equipo de absorción atómica SHIMADZU AA-7000, este debe ser programado a través del software WizAArd, instalado en el equipo.

El software WizAArd permite realizar automáticamente controles para garantizar la calidad de los datos, tales como coeficientes de correlación, verificación inicial de calibración verificación continua de calibración en el transcurso de las lecturas de concentración de las de las muestras, valores del blanco menores al límite de detección, entre otras.

### **Determinación de cobre**

#### **Tratamiento para recolección de muestras**

La recolección y preservación de las muestras se realizó como se describe a continuación:

Lavar los recipientes para la recolección de muestras antes de usarlos con jabón y enjuagarlos muy bien para quitar impurezas, luego enjuagarlos con agua desionizada.

Limpiar los recipientes para la recolección de muestras con suficiente ácido nítrico al 10% para eliminar rastros de analitos que puedan interferir con la determinación y enjuagar con agua desionizada.

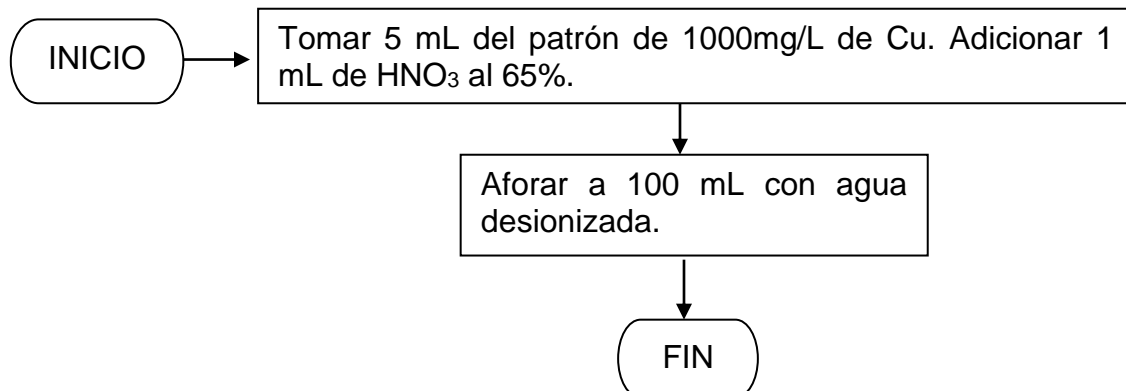
#### **Preservación de la muestras**

A las muestras recolectadas se les debe adicionar ácido nítrico al 65% con el fin de que éste las ayude a conservar, y deben guardarse las muestras refrigeradas para ayudar con su conservación, pero se debe tener en cuenta que las muestras deben ser analizadas antes de seis meses para mejores resultados. Para la preservación de las muestras de agua se debe adicionar 1 mL de ácido nítrico por cada 100 mL de muestra.

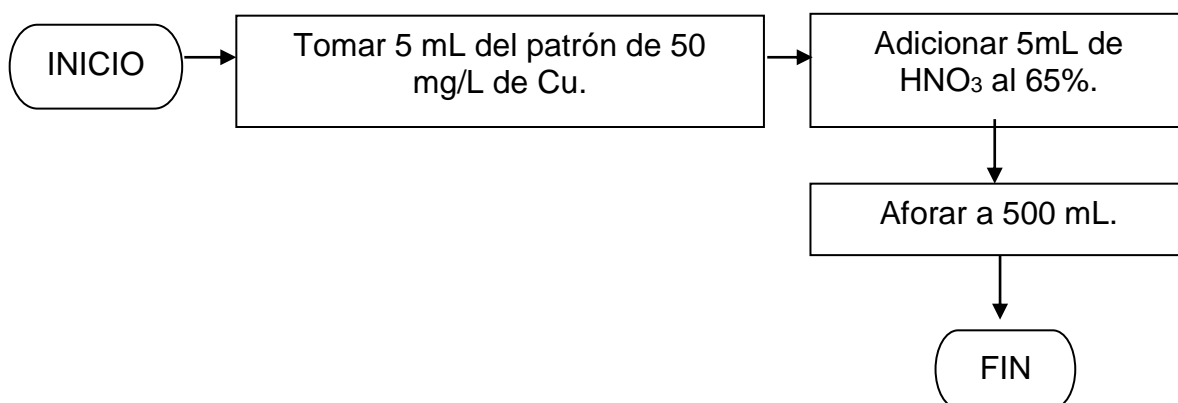
### **Procedimiento**

Para llevar a cabo la determinación de cobre se preparó una curva de calibración como se describe a continuación:

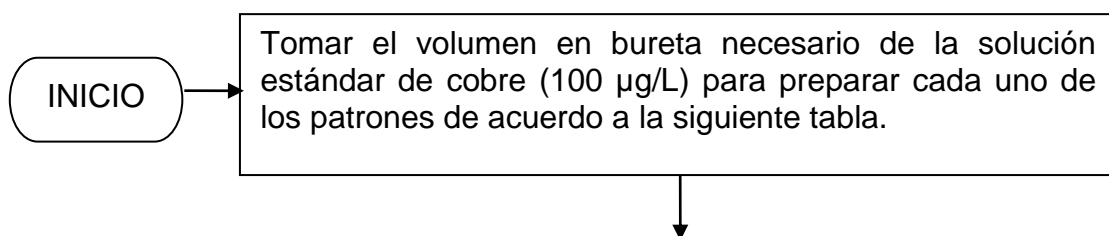
### Preparación solución madre de cobre (50mg/L)



### Preparación estándar de cobre (100 µg/L)



### Preparación de los patrones de la curva de calibración



Patrón	Concentración (µg/L)	Volumen de solución estándar a tomar (mL)
1	10	10
2	20	20
3	50	50
4	60	60

5	80	80
6	100	0

Tomar el volumen correspondiente, adicionar a cada uno de los patrones y blanco 1 mL de ácido nítrico concentrado, aforar a 100 mL con agua desionizada.

Pasar los patrones antes preparados a recipientes plásticos previamente lavados con ácido nítrico al 10%.

FIN

**Nota:** El blanco que se utilizó para determinar cobre fue agua ultra pura.

La determinación de cobre se realizó en el equipo de absorción atómica SHIMADZU AA-7000 por horno de grafito.

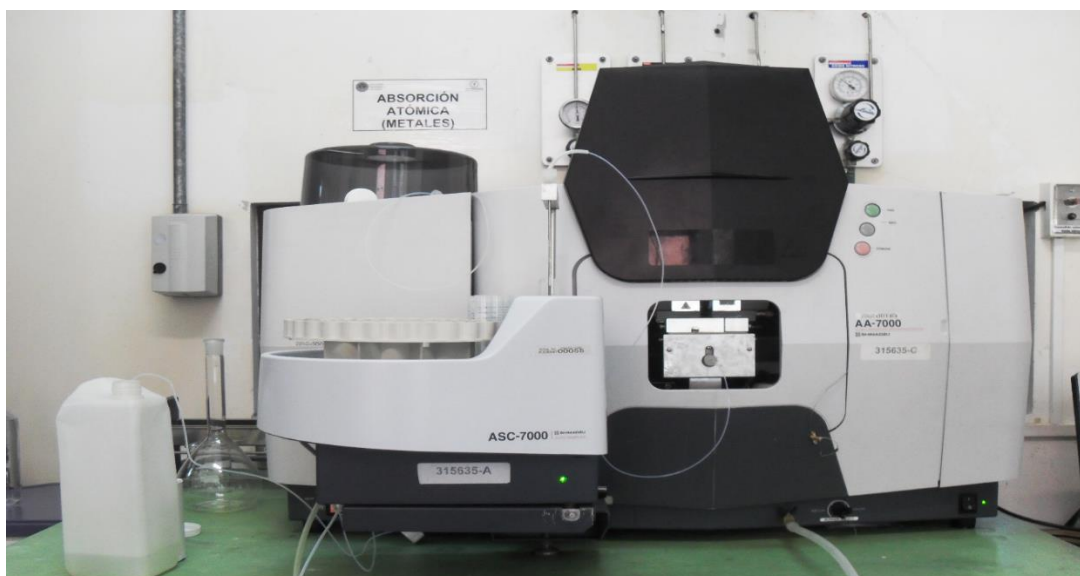


Imagen del equipo de absorción atómica SHIMADZU AA- 7000, del Laboratorio de Análisis de Aguas y Alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira.

**Anexo 7. Análisis de correlación de Pearson Antes de la Cloración.**

Compuestos	Parámetros	Correlación de Pearson	Sig. (bilateral)
Cloroformo	pH Antes de la cloración	0,047	0,804
	Temperatura Antes de la cloración	-0,103	0,590
	Turbiedad Antes de la cloración	-0,123	0,517
	Color Antes de la cloración	-0,044	0,819
	Alcalinidad Antes de la cloración	0,111	0,558
	Acidez Antes de la cloración	0,154	0,426
	COT Antes de la cloración	-0,139	0,463
	COD Antes de la cloración	-0,267	0,357
	Calcio Antes de la cloración	0,154	0,416
	Magnesio Antes de la cloración	0,194	0,303
	Cobre Antes de la cloración	-0,229	0,224
Bromodiclorometano	pH Antes de la cloración	0,073	0,702
	Temperatura Antes de la cloración	-0,187	0,322
	Turbiedad Antes de la cloración	0,047	0,805
	Color Antes de la cloración	0,116	0,543
	Alcalinidad Antes de la cloración	0,066	0,730
	Acidez Antes de la cloración	-0,060	0,756
	COT Antes de la cloración	0,030	0,873

	COD Antes de la cloración	-0,047	0,873
	Calcio Antes de la cloración	0,312	0,093
	Magnesio Antes de la cloración	0,336	0,069
	Cobre Antes de la cloración	0,063	0,739
Dibromoclorometano	pH Antes de la cloración	0,073	0,702
	Temperatura Antes de la cloración	-0,187	0,322
	Turbiedad Antes de la cloración	0,047	0,805
	Color Antes de la cloración	0,116	0,543
	Alcalinidad Antes de la cloración	0,066	0,730
	Acidez Antes de la cloración	-0,060	0,756
	COT Antes de la cloración	0,030	0,873
	COD Antes de la cloración	-0,047	0,873
	Calcio Antes de la cloración	0,312	0,093
	Magnesio Antes de la cloración	0,336	0,069
	Cobre Antes de la cloración	0,063	0,739



**Anexo 8.** Análisis de correlación de Pearson después de la Cloración.

Compuestos	Parámetros	Correlación de Pearson	Sig. (bilateral)
Cloroformo	pH después de la cloración	0,262	0,162
	Temperatura después de la cloración	0,253	0,177
	Turbiedad después de la cloración	-0,111	0,558
	Color después de la cloración	0,010	0,960
	Alcalinidad después de la cloración	-0,059	0,759
	Cloro residual	-0,128	0,507
	COT después de la cloración	0,356	0,053
	COD después de la cloración	0,074	0,801
	Calcio después de la cloración	0,021	0,914
	Magnesio después de la cloración	0,002	0,991
	Cobre después de la cloración	0,092	0,629
Bromodiclorometano	pH después de la cloración	0,253	0,178
	Temperatura después de la cloración	0,116	0,542
	Turbiedad después de la cloración	-0,257	0,170
	Color después de la cloración	-0,147	0,446
	Alcalinidad después de la cloración	-0,204	0,281
	Cloro residual	-0,002	0,994
	COT después de la cloración	0,447	0,013
	COD después de la cloración	-0,158	0,589

	Calcio después de la cloración	0,058	0,761
	Magnesio después de la cloración	0,051	0,790
	Cobre después de la cloración	-0,014	0,941
Dibromoclorometano	pH después de la cloración	-0,022	0,907
	Temperatura después de la cloración	-0,187	0,323
	Turbiedad después de la cloración	0,122	0,521
	Color después de la cloración	0,170	0,377
	Alcalinidad después de la cloración	0,180	0,341
	Cloro residual	0,088	0,649
	COT después de la cloración	-0,115	0,546
	COD después de la cloración	0,273	0,345
	Calcio después de la cloración	-0,021	0,914
	Magnesio después de la cloración	-0,017	0,929
	Cobre después de la cloración	0,017	0,929

## Anexo 9. Análisis de correlación de Pearson en la Red de distribución

Compuestos	Parámetros	Correlación de Pearson	Sig. (bilateral)
Cloroformo	pH en la red de distribución	0,308	0,330
	Temperatura en la red de distribución	0,260	0,391
	Turbiedad en la red de distribución	-0,002	0,994
	Color en la red de distribución	-0,487	0,129
	Alcalinidad en la red de distribución	-0,104	0,867
	Cloro en la red de distribución	-0,213	0,484
	COT en la red de distribución	0,420	0,300
	COD en la red de distribución	0,443	0,379
	Calcio en la red de distribución	-0,324	0,280
	Magnesio en la red de distribución	-0,335	0,263
	Cobre en la red de distribución	-0,367	0,218
Bromodiclorometano	pH en la red de distribución	0,446	0,146
	Temperatura en la red de distribución	0,414	0,159
	Turbiedad en la red de distribución	-0,281	0,376
	Color en la red de distribución	-0,271	0,421
	Alcalinidad en la red de distribución	0,080	0,898
	Cloro en la red de distribución	-0,038	0,902
	COT en la red de distribución	0,719	0,044

	COD en la red de distribución	-0,160	0,762
	Calcio en la red de distribución	-0,393	0,184
	Magnesio en la red de distribución	-0,346	0,247
	Cobre en la red de distribución	-0,158	0,606
Dibromoclorometano	pH en la red de distribución	-0,327	0,299
	Temperatura en la red de distribución	-0,417	0,157
	Turbiedad en la red de distribución	0,234	0,465
	Color en la red de distribución	0,224	0,508
	Alcalinidad en la red de distribución	-0,377	0,531
	Cloro en la red de distribución	0,008	0,981
	COT en la red de distribución	-0,786	0,021
	COD en la red de distribución	0,079	0,882
	Calcio en la red de distribución	0,020	0,949
	Magnesio en la red de distribución	-0,065	0,833
	Cobre en la red de distribución	0,132	0,668

**Anexo 10.** Prueba de Normalidad de los datos.

Compuesto		Estadístico	gl	Sig
Cloroformo	Antes de la cloración	0,347	30	0,000
	Después de la cloración	0,891	30	0,005
	En red de distribución	0,911	13	0,191
BDCM	Antes de la cloración	0,180	30	0,000
	Después de la cloración	0,594	30	0,000
	En red de distribución	0,540	13	0,000
DBCM	Antes de la cloración	0,180	30	0,000
	Después de la cloración	0,692	30	0,000
	En red de distribución	0,518	13	0,000
Bromoformo	Antes de la cloración	0,282	30	0,000
	Después de la cloración	0,311	13	0,000

**Anexo 11.** Análisis ANOVA no paramétrico.

Hipótesis nula	sig	Decisión
La cantidad de cloroformo es la misma entre las categorías de cloración (antes, después y en la red de distribución).	0,000	Rechazar la hipótesis nula
La cantidad de BDCM es la misma entre las categorías de cloración (antes, después y en la red de distribución).	0,004	Rechazar la hipótesis nula
La cantidad de DBCM es la misma entre las categorías de cloración (antes, después y en la red de distribución).	0,399	Aceptar la hipótesis nula
La cantidad de bromoformo es la misma entre las categorías de cloración (antes, después y en la red de distribución).	0,336	Aceptar la hipótesis nula